

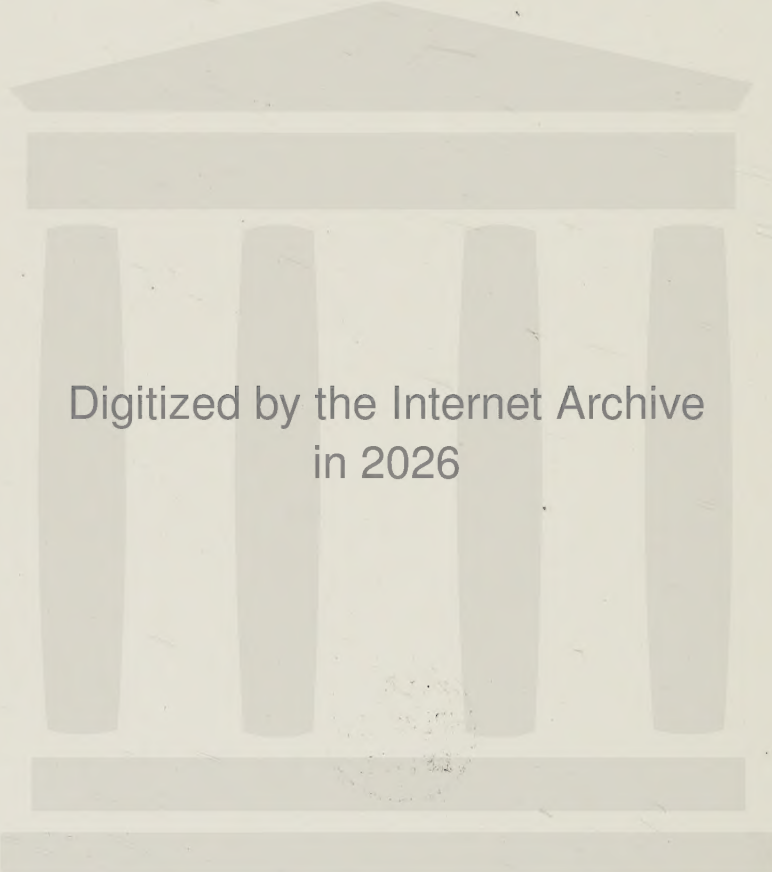
Die Glykoside der Samen
von *Strophanthus Thollonii* Franch.

Verkürzte Fassung der
INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von
EKKEHARD WEISS
aus Lörrach (Baden)

Basel
Buchdruckerei Birkhäuser AG.
1958



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546715_0119

Die Glykoside der Samen
von *Strophanthus Thollonii* Franch.

Verkürzte Fassung der

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der

Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

EKKEHARD WEISS

aus Lörrach (Baden)



Basel

Buchdruckerei Birkhäuser AG.

1958

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
auf Antrag der Herren Professoren Dr. *T. Reichstein* und Dr. *H. Erlenmeyer*.

Basel, den 25. Juni 1957.

Prof. Dr. *W. Becker*
Dekan.

Herrn *Ekkehard Weiss* wurde von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am 25. Juni 1957 erlaubt, diese verkürzte Fassung seiner am 25. Juni 1957 genehmigten Inauguraldissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit mit dem Titel:

„*Die Glykoside der Samen von Strophanthus Thollonii Franch.*“

kann eingesehen oder entliehen werden:

1. in der Organisch-chemischen Anstalt der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.

Vorversuche zur Konstitutionsermittlung von Sarmentosid A, Thollosid und verwandten Glykosiden.

Sarmentosid A wurde neben anderen Glykosiden zuerst aus den Samen von *Strophanthus sarmentosus* A. DC. isoliert⁴⁻¹⁰). Es ist dort im Gemisch der wasserlöslichen Monoglykoside (der «Sarmentoside») enthalten und schwer, rein abzuscheiden, daher blieb die Einheitlichkeit der verschiedenen Präparate lange unsicher. Vor einiger Zeit fanden wir, dass Gemische ähnlicher Zusammensetzung auch in den Samen von *Strophanthus Thollonii* Franch. enthalten sind¹¹), und kürzlich wurde die erste möglichst vollständige Trennung eines solchen Gemisches unter Kontrolle durch Papierchromatographie beschrieben²). 18 Glykoside liessen sich nachweisen. Von diesen waren zwei (die Subst. R und S) nur in sehr kleiner Menge anwesend; sie wurden noch nicht in reiner Form isoliert und weder diese 2 Stoffe selbst noch ihre O-Acetyl-Derivate kristallisierten bisher. Von den 16 andern Stoffen wurde (ausser bei Subst. γ ¹²)) jeweils entweder das freie Glykosid oder sein Acetylderivat (oder beide) in Kristallen erhalten.

Wir konnten inzwischen eine Reihe dieser Stoffe weiter charakterisieren und teilweise durch eindeutige Reaktionen ineinander überführen. Dadurch lassen sich hypothetische Formeln ableiten, die zwar noch in keinem Fall wirklich bewiesen sind, die aber die teilweise unerwarteten Reaktionen der genannten Glykoside weitgehend zu erklären vermögen.

Durch saure Hydrolyse im Mikromaßstab und anschliessende Prüfung der Zucker im Papierchromatogramm, teilweise auch durch direkte Verknüpfung

⁴) J. Schmutz & T. Reichstein, *Pharmac. Acta Helv.* **22**, 167 (1947).

⁵) J. Schmutz, *Helv.* **31**, 1719 (1948).

⁶) A. Buzas, J. v. Euw & T. Reichstein, *Helv.* **33**, 465 (1950).

⁷) J. v. Euw, F. Reber & T. Reichstein, *Helv.* **34**, 413 (1951).

⁸) J. Schmutz & T. Reichstein, *Helv.* **34**, 1264 (1951).

⁹) J. v. Euw & T. Reichstein, *Helv.* **35**, 1560 (1952) (betr. «Sarmentosid B»).

¹⁰) F. Reber & T. Reichstein, *Pharmac. Acta Helv.* **28**, 1 (1953).

¹¹) J. v. Euw, O. Schindler & T. Reichstein, *Helv.* **38**, 987 (1955).

¹²) Subst. γ wurde inzwischen aus anderer Quelle isoliert und konnte kristallisiert werden¹³).

¹³) Vgl. Diss. B. Fechtig, Basel, die demnächst erscheint.

der Glykoside (siehe unten), liess sich zunächst zeigen, dass von den genannten 18 Glykosiden die zehn im oberen Teil a der Tab. 1 zusammengefassten Vertreter höchst wahrscheinlich nur zwei verschiedene Zucker, nämlich L-Talomethylose und L-Rhamnose¹⁴⁾ enthalten. In Tab. 1 sind sie dementsprechend nach dem Zucker in zwei Gruppen (A und B) eingeteilt. — Aus den später genannten Gründen vermuten wir, dass auch die weiteren 8 Glykoside dieselben zwei Zucker enthalten und sich, wie im unteren Teil b der Tab. 1 angedeutet, auch den Gruppen A und B zuordnen lassen, doch ist dies bisher nicht bewiesen.

Tabelle 1.

Einteilung der 18 Glykoside aus *S. Thollonii* nach dem Zucker.

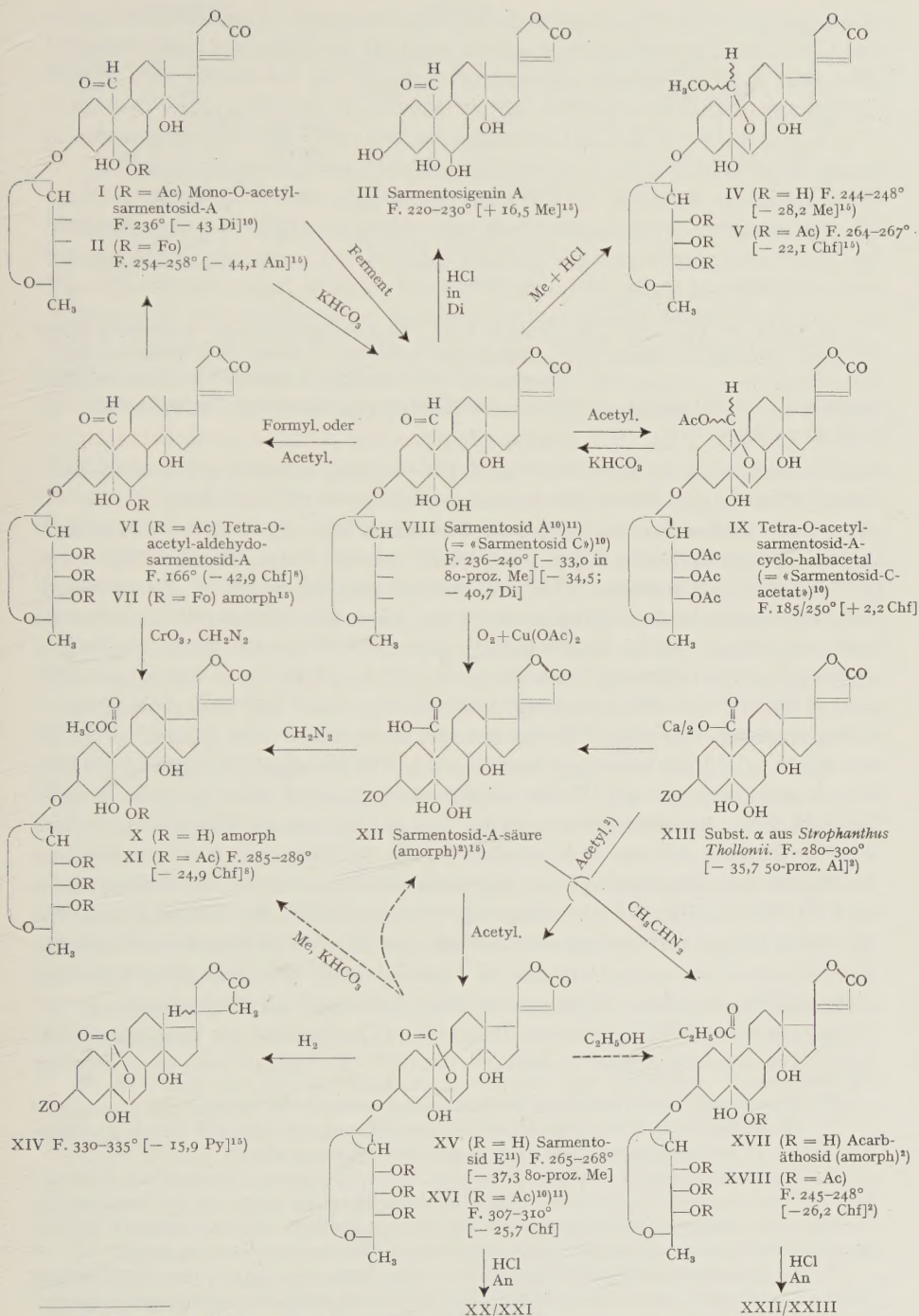
a) Zucker zeigt im Papierchromatogramm eine Laufstrecke wie	
L-Talomethylose (Gruppe A)	L-Rhamnose (Gruppe B)
Subst. α	Ouabain
Sarmentosid-A-säure-methylester . .	Subst. γ
Sarmentosid A	Thollosid
Acarbäthosid	Tholläthosid
Sarmentosid E	Thollodiolidosid
b) Natur des Zuckers nur vermutet oder indirekt erschlossen	
Subst. T	Zenkosid
Sarmentosid D	Subst. Q
Bipindosid	Lokundjosid
Subst. R (?)	Subst. S (?)

Auf der ersten Formelseite sind die hypothetischen Formeln der Gruppe A zusammengestellt, mit einigen Reaktionen, die besonders für die gegenseitige Verwandtschaft beweisend sind.

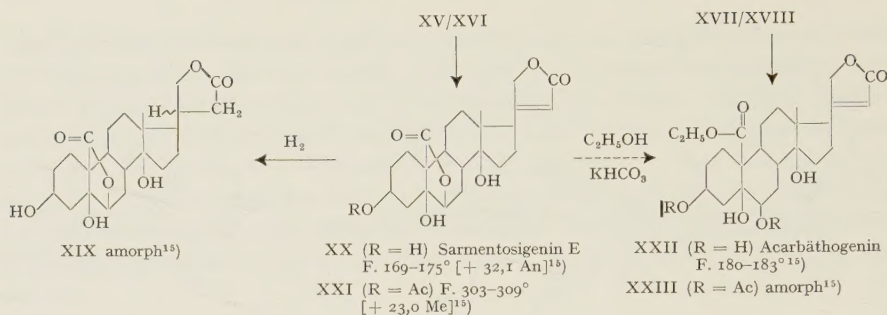
Besprechung der einzelnen Stoffe:

Gruppe A. – *Sarmentosid A (VIII) ist identisch mit «Sarmentosid C»¹⁰⁾*. Die hier vorgeschlagene Formel VIII für Sarmentosid A macht es verständlich, dass dieser Stoff bei der Acetylierung zwei verschiedene, isomere Tetra-O-acetyl-Derivate liefert, die beide gegen weitere Acetylierung mit Acetanhydrid in Pyridin bei 20° beständig sind. Es handelt sich um das Tetra-O-acetyl-alde-

¹⁴⁾ L-Talomethylose wurde aus Sarmentosid A präparativ isoliert⁵⁾. Durch die in den Formeln I–XX wiedergegebenen Verknüpfungen ist ihre Anwesenheit auch für die weiteren 4 Vertreter der Gruppe A gesichert. Die L-Rhamnose ist dagegen bisher nur aus Ouabain präparativ isoliert worden, das nur spurenweise in *S. Thollonii* enthalten ist und dessen Aglykon in keinem der Glykoside der Gruppe A vorkommt. Den Zucker der anderen vier Vertreter aus Gruppe B haben wir bisher nur papierchromatographisch charakterisiert. Dass es sich tatsächlich auch um L-Rhamnose handelt, ist inzwischen von B. Fechtig¹³⁾ bewiesen worden.



¹⁵⁾ Exper. Teil dieser Arbeit.



Ac = $CH_3C(=O)-$, Fo = $HC(=O)-$, Z = Zucker-Rest. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehung in folgenden Lösungsmitteln an: An = Aceton, Al = Äthanol, Chf = Chloroform, Di = Dioxan, Me = Methanol, Py = Pyridin. Gestrichelte Pfeile bedeuten Reaktionen, deren Ablauf nur durch papierchromatographischen Nachweis der Endprodukte demonstriert wurde.

hydo-sarmentosid-A (VI)¹⁶⁾ und das Tetra-O-acetyl-sarmentosid-A-cyclo-halb-acetal (IX)¹⁷⁾, das bisher als Sarmentosid-C-acetat¹⁰⁾ bezeichnet wurde. VI zeigt im UV. neben der Absorption des Butenolidringes eine deutliche Schulter⁸⁾ bei ca. 300 $m\mu$ und wird durch CrO_3 leicht zu einer Säure oxydiert, die durch den gut krist. Methylester XI charakterisiert wurde; damit ist die Anwesenheit einer freien Aldehydgruppe in VI erwiesen. IX zeigt im UV. im Gebiet von 300–310 $m\mu$ sehr niedrige Extinktion ($\epsilon < 10$)¹⁰⁾ und ist gegen CrO_3 in Eisessig einige Zeit beständig. Verseifung von VI mit $KHCO_3$ in wässrigem Methanol liefert ein Mono-O-acetyl-Derivat I¹⁰⁾, das bei Reacetylierung in hoher Ausbeute nur noch VI und kein IX zurückliefert. In I muss somit die für die Ringbildung benötigte reaktionsträge HO-Gruppe (hier als 6 β -ständig formuliert) acetyliert sein. Unter gleichen Bedingungen wird das cyclo-Derivat IX zum freien Sarmentosid A verseift. Ein so gewonnenes Präparat ist früher als Sarmentosid C bezeichnet worden¹⁰⁾. Wir fanden jetzt, dass es nicht nur im Papierchromatogramm genau gleich läuft wie Sarmentosid A, sondern auch im UV. (Tab. 2) wieder wie dieses die typische Aldehydbande zeigt, und bei der Acetylierung auch wieder ein Gemisch von VI und IX liefert¹⁸⁾. Die leichte Verseifbarkeit des cyclo-Derivats IX schliesst auch aus, dass es sich um ein ortho-Acetat handelt. Behandlung des 6-Mono-O-acetyl-Derivats I mit Schneckenferment¹⁰⁾ lieferte ein Präparat, das seinerzeit als Sarmentosid-A-Schneckenfermentpräparat bezeichnet wurde¹⁹⁾. Es handelt sich auch hier um

¹⁶⁾ Dieser Stoff wurde bisher als Sarmentosid-A-acetat bezeichnet.

¹⁷⁾ Theoretisch wären zwei Stoffe der Formel IX möglich, die sich durch Raumisomerie an C-19 unterscheiden. Bisher wurde nur einer davon isoliert.

¹⁸⁾ Beim «Sarmentosid C» hat es sich somit um analysenreines Sarmentosid A gehandelt. Die Bezeichnung Sarmentosid C als besonderer Stoff ist daher aus der Literatur zu streichen. Aus obigem Grunde wird es nun leicht verständlich, dass es früher nie gelang, Sarmentosid A vom vermeintlich darin enthaltenen Sarmentosid C zu trennen.

¹⁹⁾ An seiner Einheitlichkeit wurde früher auch besonders darum gezweifelt, weil es bei der Acetylierung ein Gemisch lieferte. Die jetzt durchgeführte papierchromatographische Kontrolle zeigte, dass wieder VI und IX entstanden waren.

reines Sarmentosid A. Formylierung von Sarmentosid A²⁰⁾ lieferte ein amorphes Präparat, das vermutlich zur Hauptsache das Tetra-O-formyl-Derivat VII enthielt²²⁾, das bereits bei der Chromatographie an Silicagel partiell zum krist. 6-Mono-O-formyl-Derivat II verseift wurde. Letzteres liess sich mit KHCO_3 in wässrigem Methanol zum freien Sarmentosid A (VIII) verseifen.

In Übereinstimmung mit der vorgeschlagenen Formel lieferte Sarmentosid A (VIII) ($\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{O}_{11}$) bei Behandlung mit HCl in Methanol ein krist. cyclo-Methylacetal (IV) $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_{11}$, das nur eine Methoxylgruppe enthielt²³⁾. Es konnte durch ein krist. Tri-O-acetyl-Derivat V (Papierchromatogramm vgl. Fig. 11) charakterisiert werden. Das Cyclo-acetal IV zeigte in einer Dosis von 7,254 mg/kg bei intravenöser Infusion an der Katze keine Wirkung; am Frosch wirkten erst 33,56 mg/kg tödlich. Der Stoff zeigt demnach höchstens eine äusserst schwache digitalisartige Wirkung²⁴⁾.

Nach Hydrolyse von Sarmentosid A mit HCl in Aceton²⁵⁾ sind früher⁸⁾ neben L-Talomethylose die drei «Anhydrogenine» α , β und γ erhalten worden. Die Prüfung des Rohproduktes im Papierchromatogramm zeigte jetzt 5 Flecke (analog Nr. 7 in Fig. 10). Die Flecke A, γ , α , β zeigten gleiche Laufstrecke, wie Sarmentosid A und die drei genannten Anhydrogenine. Es wurde daher vermutet, dass es sich bei G um das bisher noch unbekannte Sarmentosigenin A (III) handelt. Vorversuche zeigten, dass dieser Fleck etwas stärker bei Spaltung mit HCl in Dioxan entstand. Am günstigsten schien 8tägige Einwirkung bei 20°. Bei präparativer Durchführung gelang es, aus dem Hydrolysat, nach Chromatographie an Al_2O_3 und anschliessender präparativer Papierchromatographie²⁶⁾, den dem Fleck G entsprechenden Stoff (EWE 48) in 5,9% Ausbeute in Kristallen zu isolieren. Er war zuckerfrei, die Analyse passte ungefähr auf die Formel $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_7$, im UV.-Absorptionsspektrum (vgl. III in Fig. 1 und Tab. 2) entsprach die Höhe der Extinktion bei 217 μ ungefähr dem für III berechneten Molekulargewicht, auch war das schwache Maximum der Aldehydgruppe sichtbar. Wir glauben daher, dass es sich um das gesuchte intakte Genin gehandelt hat. Dementsprechend gab eine Acetylierung im Mikromaßstab ein Gemisch, das im Papierchromatogramm (13 in Fig. 12) zwei Flecke zeigte, deren Laufstrecken ein sehr ähnliches Verhältnis zeigten wie diejenigen der zwei Acetylderivate VI und IX.

Substanz α (XIII). Dieser krist. Stoff war das Ca-Salz²⁾ einer amorphen Säure, die jetzt als Sarmentosid A-säure (XII) erkannt werden konnte. Bei Be-

²⁰⁾ Es wurde eine geringe Modifikation der von Sigg und Mitarb.²¹⁾ benützten Bedingungen verwendet. Sie haben sich bei Convallatoxin als Modell gut bewährt. Dabei wurde erstmals krist. Tri-O-formyl-convallatoxin bereitet.

²¹⁾ H. P. Sigg, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. **36**, 985 (1953).

²²⁾ Im Papierchromatogramm gab es einen starken, rasch wandernden Fleck und einen zweiten, schwachen Fleck (Nr. 3 in Fig. 10).

²³⁾ Theoretisch wäre auch hier die Bildung eines zweiten Raumisomeren möglich.

²⁴⁾ Wir danken Herrn Dr. K. K. Chen, Indianapolis, auch hier bestens für die Angabe dieser Resultate. Für genauere Messungen war die verfügbare Menge ungenügend.

²⁵⁾ Methode von C. Mannich & G. Siewert, Ber. deutsch. chem. Ges. **75**, 737 (1942).

²⁶⁾ E. v. Arx & R. Neher, Helv. **39**, 1664 (1956).

handlung mit Diazomethan lieferte sie einen bisher ebenfalls amorphen Methylester X, der bei Acetylierung in den bekannten Tetra-O-acetyl-methylester XI⁸⁾ überging. Die Säure XII konnte jetzt auch in guter Ausbeute durch

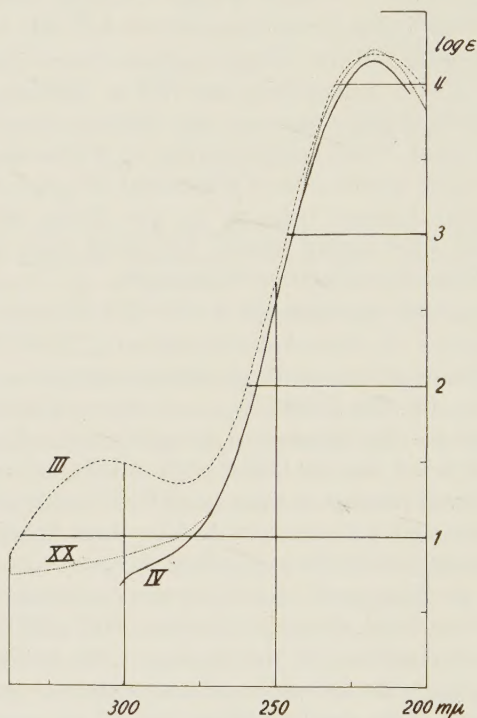


Fig. 1.

UV.-Absorptionsspektren in Alkohol^{26a)}

III = Sarmentosigenin A (Präp. EWE 48) (III)

IV = Sarmentosid-A-cyclo-methylacetal (IV)

XX = Sarmentosigenin E (XX)

Oxydation von Sarmentosid A (VIII) mit O₂ in wässriger Lösung in Gegenwart von Cu^{II}-Acetat²⁷⁾ erhalten werden.

Die saure Hydrolyse von Substanz α (XIII) mit HCl in Aceton²⁵⁾ wurde bisher erst im Mikromaßstab ausgeführt. Nach 9 Tagen zeigte das Reaktionsprodukt im Papierchromatogramm (15 in Fig. 13) nur einen starken (und einen sehr schwachen) Fleck. Im System Wasser-Butanol lief der starke Fleck ca. doppelt so schnell wie Substanz α , aber noch langsamer als Ouabagenin. Es könnte sich daher um den intakten, zuckerfreien Anteil der Säure XII handeln.

^{26a)} Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller in einem Unicam SP 500 Spektrophotometer mit Sekundär-Elektronen-Vervielfacher I P 28. Lage und Höhe der Banden vgl. Tab. 2.

²⁷⁾ Nach Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, 4. Aufl., Bd. VIII, p. 411, Stuttgart 1952, wird Cu^{II}-Acetat teilweise in Gemisch mit anderen Schwermetallsalzen in verschiedenen technischen Verfahren zur Oxydation von Aldehyden zu den entsprechenden Säuren verwendet.

Tabelle 2.

Lage und Höhe der Absorptionsmaxima im UV. (in Alkohol)^{26a)}.

Präparat	Butenolid- ring		Carbonyl- region		log ϵ berechnet auf
	$\lambda_{\max}$ in $m\mu$	log ϵ	$\lambda_{\max}$ in $m\mu$	log ϵ	
« Sarmentosid C » (VIII aus IX)	217	4,17	305	1,33	$C_{29}H_{42}O_{11} = 566,6$
Sarmentosid-A-cyclo- methylacetal (IV) . . .	217	4,16	—	—	$C_{30}H_{44}O_{11} = 580,7$
Sarmentosigenin A (III) .	217	4,20	307	1,50	$C_{23}H_{32}O_7 + H_2O = 438,5$
Di-O-acetyl-acarbäthogenin	217	4,23	—	—	$C_{29}H_{40}O_{10} = 548,6$
Tri-O-formyl-convallatoxin	217	4,19	295–300	1,49	$C_{32}H_{42}O_{13} = 634,7$

Sarmentosid E (XV). Sowohl Sarmentosid-A-säure (XII) wie Substanz α (XIII)²⁾ lieferten bei der Acetylierung mit Acetanhydrid in Pyridin in guter Ausbeute ein krist. Neutralprodukt, das sich als identisch mit Tri-O-acetyl-sarmentosid-E (XVI) erwies. Umgekehrt lieferte die Behandlung des letzteren (XVI) mit $KHCO_3$ in wässrigem Methanol (bisher nur im Mikromaßstab durchgeführt) nach Papierchromatogramm (Nr. 17 in Fig. 14) ein Gemisch von 3 Stoffen; nach den Laufstrecken handelt es sich um sehr wenig Sarmentosid E (XV) sowie vorwiegend um den Methylester X und die Säure XII. Dementsprechend verbrauchte Sarmentosid E (XV) beim Kochen mit Alkali zwei Äqu. Lauge. Dies entspricht den zwei darin enthaltenen Lactongruppen, da Sarmentosid E (XV) im IR.-Spektrum (vgl. Fig. 2) bei $7,30$ $7,35 \mu$ und bei $8,10$ – $8,15 \mu$ die für eine O-Acetyl-Gruppe typische Absorption nicht zeigte. Das IR.-Spektrum erlaubt jedoch nicht, die Grösse des Lactonringes festzustellen,

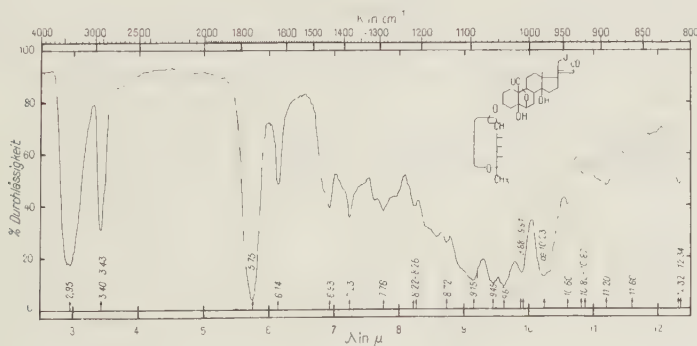


Fig. 2.

IR.-Absorptionsspektrum von Sarmentosid E (XV) (Präp. EWE 43) in KBr^{27a)}.

^{27a)} Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller in einem Perkin-Elmer double beam Spektrophotometer Modell 21 mit NaCl-Prisma. Die in KBr aufgenommenen Proben wurden zum Mischen „vibriert“, was möglicherweise die Ursache für die teilweise unscharfen, stark verbreiterten Banden ist.

da die starke Bande des Butenolidringes bei $5,73 \mu$ sowohl eine γ - (ca. $5,65 \mu$) wie eine δ -Lactonbande (ca. $5,77 \mu$) weitgehend verdeckt. Daher wurde eine Probe Sarmentosid E hydriert. Das Hydrierungsprodukt XIV war nach dem UV.-Spektrum gesättigt, es verbrauchte beim Kochen mit KOH wieder zwei Äqu. Lauge. Im IR. (vgl. Fig. 3) war im CO-Gebiet nur eine starke Bande bei $5,65 \mu$ sichtbar. Wir glauben daher, dass keine δ -Lactongruppe, sondern nur zwei γ -Lactongruppen anwesend sind, und sehen dieses Resultat als zwar nur negative, aber wichtige Stütze der vorgeschlagenen Formeln an.

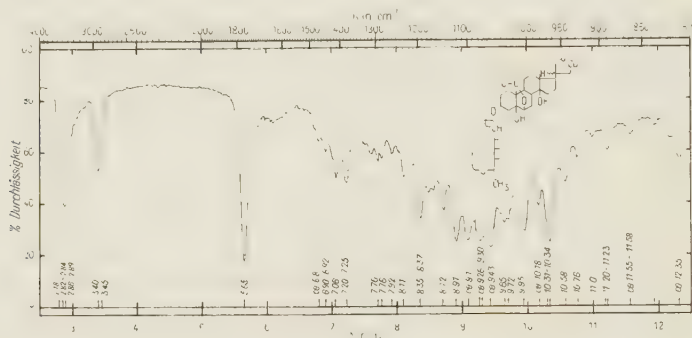


Fig. 3.

IR.-Absorptionsspektrum von Dihydro-sarmentosid E (XIV) (Präp. EWE 47) in KBr^{27a}).

Die Hydrolyse von Sarmentosid E (XV) mit HCl in Aceton²⁵) verlief im Unterschied zu VIII recht glatt. Die papierchromatographische Kontrolle ergab, dass im wesentlichen nur ein Stoff (XX) gebildet wurde. Dementsprechend lieferte die präparative Durchführung neben krist. L-Talomethylose das krist. Sarmentosigenin E (XX). Die Analyse des bei 100° und 0,01 Torr getrockneten Präparats passte auf $C_{23}H_{30}O_7 + H_2O$. Es war längere Trocknung bei 140° nötig, um das letzte Kristallwasser zu entfernen. Dass es sich nicht um die freie Säure gehandelt hat, folgt aus dem IR.-Spektrum (vgl. Fig. 4). Es fehlt darin die für Carbonsäuren typische breite HO-Bande bei ca. $3,2$ – $3,8 \mu$.

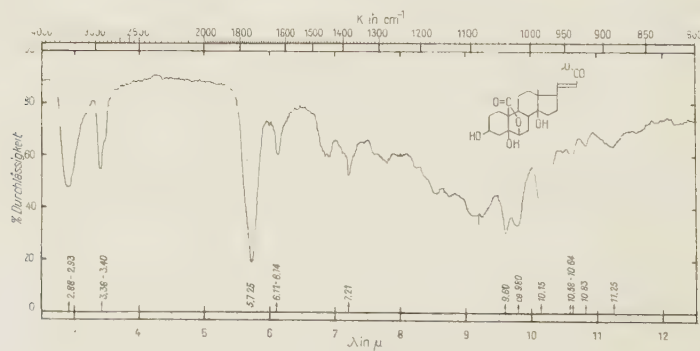


Fig. 4.

IR.-Absorptionsspektrum von Sarmentosigenin E (XX) (Präp. EWE 36) in KBr^{27a}).

Bei der Acetylierung lieferte Sarmentosigenin E (XX) das gut krist. 3-O-Acetyl-Derivat XXI. IR.-Spektrum vgl. Fig. 5. Dass tatsächlich nur ein Mono-O-acetyl-Derivat vorliegt, folgt nicht nur aus der Analyse, sondern auch aus der Tatsache, dass bei partieller Acetylierung einer Probe von XX im Mikromaßstab nach Papierchromatogramm immer nur die zwei Flecke von XX und XXI erkennbar waren, aber kein dazwischenliegender Fleck (vgl. Fig. 16). Auch das Genin XX verbrauchte beim Kochen mit KOH zwei Äqu. Lauge.

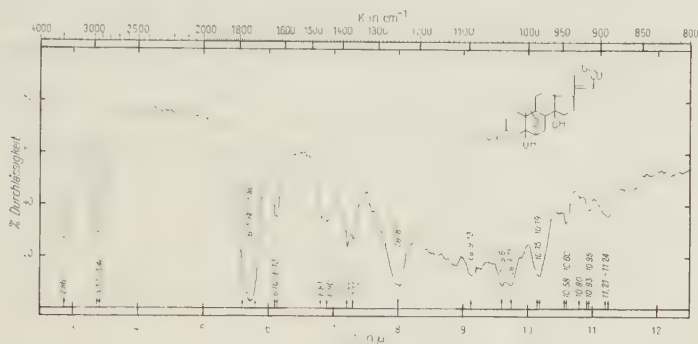


Fig. 5.

IR.-Absorptionsspektrum von Mono-O-acetyl-sarmentosigenin E (XXI)
(Präp. EWE 37) in KBr^{27a}).

Eine Probe wurde weiter im Mikromaßstab hydriert; das rohe Hydrierungsprodukt zeigte im IR. (vgl. Fig. 6) wieder nur die Bande des γ -Lactons. Verseifung einer Probe von Sarmentosigenin E (XX) mit KHCO_3 in wässrigem Methanol (Mikromaßstab) lieferte Material, das im Papierchromatogramm (30 in Fig. 19) neben einer Spur Ausgangsmaterial wieder zwei Flecke zeigte. Der kürzer laufende, in Fig. 30 stationäre Fleck dürfte dem Genin von XII und der andere dem unbekannten Genin von X entsprechen.

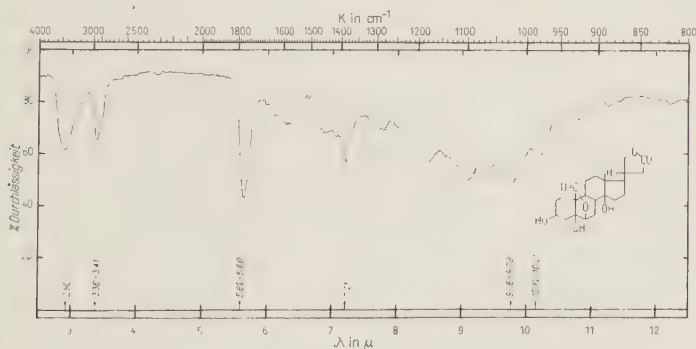


Fig. 6.

IR.-Absorptionsspektrum von Dihydro-sarmentosigenin E (XIX) (Präp. EWE 49)
in KBr^{27a}).

Acarbäthosid (XVII). Das amorphe Präparat enthielt etwas Subst. R. Bei der Hydrolyse mit HCl in Aceton²⁵⁾ lieferte es krist. L-Talomethylose und krist. Acarbäthogenin (XXII), das im Papierchromatogramm nur einen Fleck gab. Trotzdem enthielt es vermutlich noch eine kleine Menge Verunreinigung (R-Genin), denn nach Acetylierung wurde ein amorphes Präparat (rohes XXIII) erhalten, das im Papierchromatogramm (Nr. 23 in Fig. 17) einen starken und einen schwachen Fleck zeigte. Chromatographie an Al_2O_3 lieferte das Haupt-

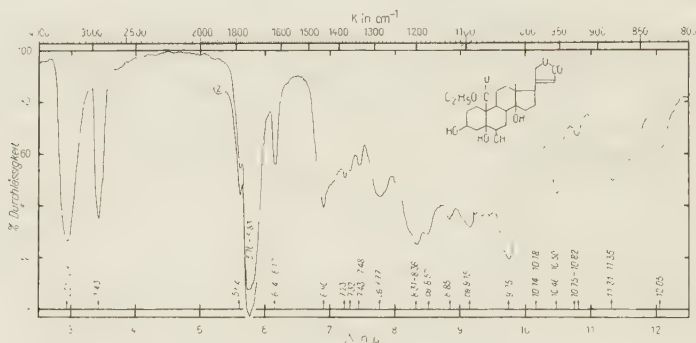


Fig. 7.

IR.-Absorptionsspektrum von Acarbäthogenin (XXII) (Präp. EWE 38) in KBr^{27a)}.

produkt XXIII in papierchromatographisch reiner, amorpher Form. Verseifung dieses vermutlichen Di-O-acetyl-Derivats XXIII mit KHCO_3 in wässrigem Alkohol im Mikromaßstab lieferte einen Stoff, der im Papierchromatogramm zwischen XXII und XXIII lief, also ein Mono-O-acetyl-Derivat darstellte. Sowohl Acarbäthosid (XVII) wie das krist. Genin XXII verbrauchten beim Kochen mit KOH zwei Äqu. Lauge und beide enthielten eine Alkoxygruppe. Auf Grund dieser Eigenschaften sowie der Analysenresultate des krist. Acetylderivats XVIII wurde vermutet, dass ein Stoff der Formel XVII vorliegen könne, was sich leicht wie folgt beweisen liess:

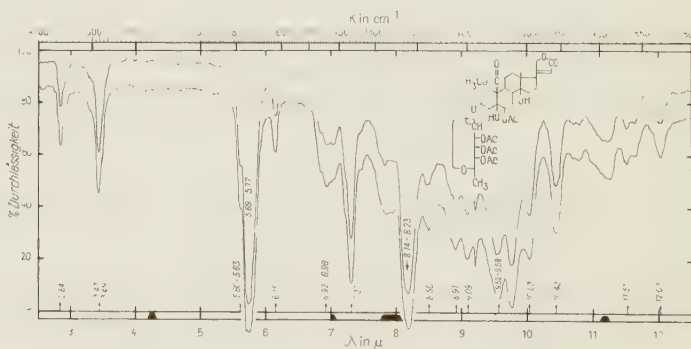


Fig. 8.

IR.-Absorptionsspektren in CH_2Cl_2 ^{27a)}.

Kurve 1 = Tetra-O-acetyl-sarmentosid-A-säure-äthylester (XVIII) synthetisch aus XII.
Kurve 2 = (um 10% nach unten verschoben) = Tetra-O-acetyl-acarbäthosid (EWE 12)²⁾.

Eine Probe Sarmentosid-A-Säure wurde mit Diazoäthan äthyliert. Der amorphe Äthylester XVII zeigte im Papierchromatogramm dieselbe Laufstrecke wie Acarbäthosid und gab nach Acetylierung ein krist. Tetra-O-acetyl-Derivat XVIII, das nach Smp., Drehung, Papierchromatogramm, Farbreaktion mit H_2SO_4 sowie IR.-Spektrum (vgl. Fig. 8) mit Tetra-O-acetyl-acarbäthosid identisch war. Ausserdem wurde Sarmentosigenin E (XX) mit KHCO_3 in wässrigem Äthanol behandelt. Nach Papierchromatogramm (Nr. 31 in Fig. 19) war auch nach mehreren Tagen die Hauptmenge XX unverändert; daneben fanden sich 2 Flecke: der rasch wandernde zeigte dieselbe Laufstrecke wie Acarbäthogenin (XXII) und der stationäre Fleck dürfte wieder der zugehörigen Säure (Genin von XII) entsprechen.

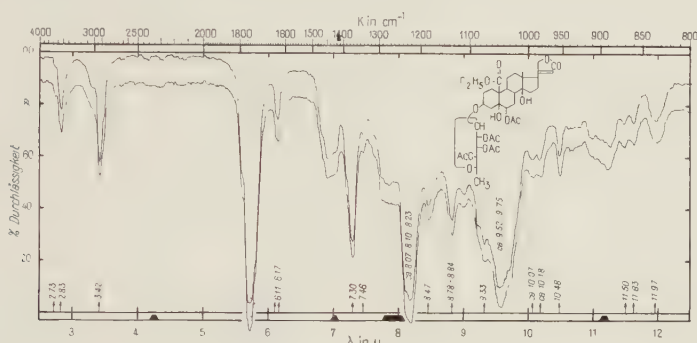


Fig. 9.

IR.-Absorptionsspektren in CH_2Cl_2 ^{27a}).

Kurve 1 = Tetra-O-acetyl-tholläthosid (EWE 4)²).

Kurve 2 = (um 10% nach unten verschoben) = Tetra-O-acetyl-thollosidsäure-äthylester (XXXII) synthetisch aus XXVII.

Gruppe B. In ähnlicher Weise liessen sich einige Stoffe der Gruppe B miteinander verknüpfen und vorläufig papierchromatographisch auch an die Gruppe A anschliessen.

Thollosid (XXVII). Dieses Glykosid unterscheidet sich von Sarmentosid A (VIII) vermutlich nur im Zuckeranteil. Die UV.-Spektren¹⁰⁾ der beiden waren praktisch identisch. Acetylierung von Thollosid mit Acetanhydrid in Pyridin lieferte zwei isomere Acetylderivate, denen wir entsprechend die Formeln XXIV und XXVI zuerteilten. Von diesen zeigt nur XXIV (EWE 2) in der Carbonyl-Region eine Schulter bei 305 $\text{m}\mu$ ($\log \epsilon = 1,40$). Der Unterschied der spez. Drehungen beträgt 42° , was mit der Differenz bei VI und IX (45°) sehr gut übereinstimmt. HCl in Me (im Mikromaßstab) lieferte einen Stoff, dessen Laufstrecke (Nr. 4 in Fig. 10) mit der für ein cycl. Methylacetal zu erwartenden übereinstimmt. Spaltung mit HCl in An (im Mikromaßstab) gab ein Gemisch, das im Papierchromatogramm (Nr. 6 in Fig. 10) mehrere Flecke zeigte; von diesen zeigten drei dieselbe Laufstrecke wie Sarmentosigenin A sowie die zwei Anhydrogenine γ und α aus Sarmentosid A. Dies spricht sehr stark dafür, dass Thollosid dasselbe Genin enthält wie Sarmentosid A. Auch

die folgenden Reaktionen stehen völlig in Analogie zu den oben beim Sarmenosid A erwähnten.

Tholodiolidosid (XXVIII). Thollosid lieferte mit O_2 in wässriger Cu^{II} -Acetat-Lösung die amorphe Thollosidsäure (XXX). Letztere gab bei Acetylierung mit Acetanhydrid in Pyridin ein krist. Neutralprodukt, das mit Tri-O-acetyl-tholodiolidosid (XXIX)²⁾ identisch war.

Beispiele für die Kontrolle durch Papierchromatographie²⁸⁾.

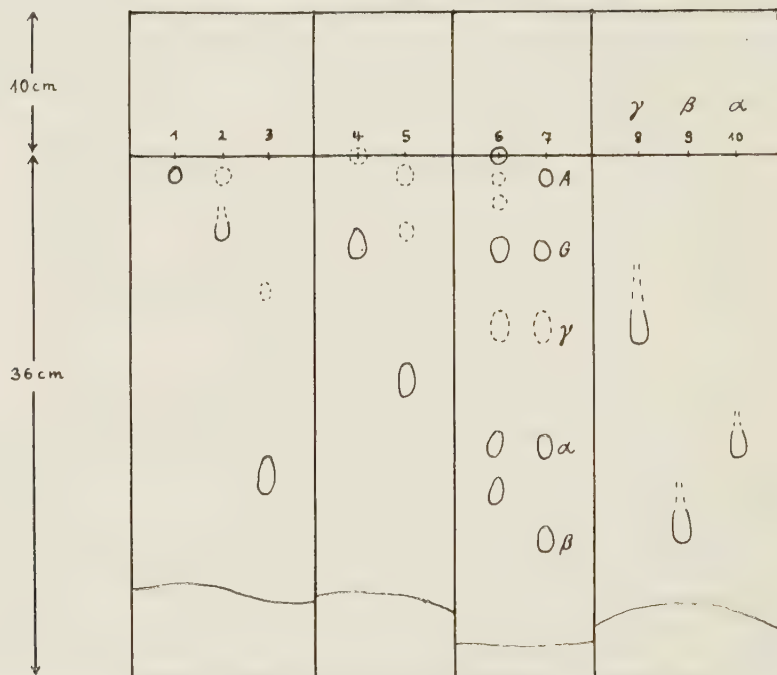


Fig. 10.

W/To-Bu-(4:1) 3 Std.

- 1 = 0,03 mg Sarmenosid A (VIII).
- 2 = 0,1 mg Mono-O-formyl-sarmenosid-A (II).
- 3 = 0,1 mg rohes Tetra-O-formyl-sarmenosid-A (VII).
- 4 = 0,1 mg Reaktionsprodukt von Thollosid mit HCl in Me nach 2 Tagen.
- 5 = 0,1 mg rohes Sarmenosid-A-cyclo-methylacetal.
- 6 = 0,1 mg Reaktionsprodukt aus Thollosid mit HCl in An nach 9 Tagen.
- 7 = 0,1 mg Reaktionsprodukt aus Sarmenosid A mit HCl in An nach 9 Tagen.
- 8 = 0,03 mg γ -Anhydrogenin⁸⁾ aus Sarmenosid A.
- 9 = 0,03 mg β -Anhydrogenin⁸⁾ aus Sarmenosid A.
- 10 = 0,03 mg α -Anhydrogenin⁸⁾ aus Sarmenosid A.
- Fleck A entspr. Sarmenosid A.
- Fleck G entspr. Sarmenosigenin A.
- Fleck γ entspr. Anhydrogenin γ ⁸⁾ aus Sarmenosid A.
- Fleck α entspr. Anhydrogenin α ⁸⁾ aus Sarmenosid A.
- Fleck β entspr. Anhydrogenin β ⁸⁾ aus Sarmenosid A.

²⁸⁾ Abkürzungen für Lösungsmittel usw. siehe Einleitung zum Exp. Teil. Temp. überall 21–22°



Fig. 11
Fmd/Be
3 Std.

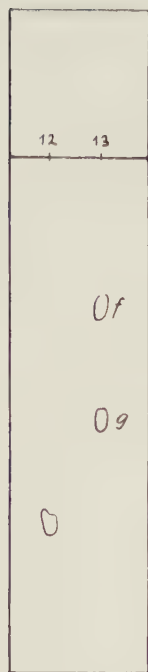


Fig. 12
Fmd/Be-Chf
-(5:7) 4 Std.

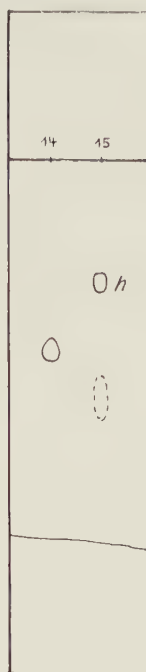


Fig. 13
W/Bu
9 Std.

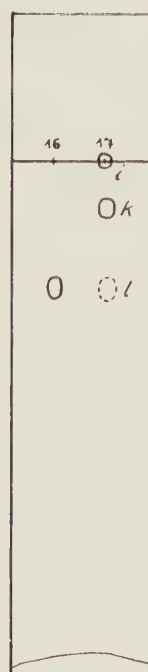


Fig. 14
W/To-Bu-(2:1)
5 Std.

11 = 0,1 mg rohes Tri-O-acetyl-sarmentosid-A-cyclo-methylacetal (V).

12 = 0,03 mg Tetra-O-acetyl-aldehydo-sarmentosid-A (VI).

13 = 0,1 mg acetyliertes Sarmentosigenin-A.

14 = 0,03 mg Ouabagenin.

15 = 0,1 mg Reaktionsprodukt von Subst. α (XIII) mit HCl in An nach 11 Tagen.

16 = 0,03 mg Sarmentosid E.

17 = 0,1 mg Reaktionsprodukt aus Tri-O-acetyl-sarmentosid-E mit KHCO_3 in Me nach 12 Tagen.

f = vermutliches Di-O-acetyl-aldehydo-sarmentosigenin-A.

g = vermutliches Di-O-acetyl-sarmentosigenin-A-cyclo-halbacetal.

h = vermutliche Sarmentosigenin-A-säure.

i = K-Salz der Sarmentosid-A-säure (XII).

k = Sarmentosid-A-säure-methylester (X).

l = Sarmentosid E (XV).

Tholläthosid (XXXI). Dieser Stoff liess sich teilsynthetisch aus der Säure XXX mit Diazoäthan herstellen. Das Rohprodukt zeigte im Papierchromatogramm dieselbe Laufstrecke wie das aus den Samen erhaltene Glykosid²⁾. Zur Identifizierung wurde acetyliert. Das krist. Tetra-O-acetyl-Derivat XXXII war nach Smp., Mischprobe, Drehung, Farbreaktion mit H_2SO_4 , Papierchromatogramm und IR.-Spektrum (Fig. 9) identisch mit dem aus den Samen erhaltenen Präparat²⁾.



Fig. 15
Fmd/Be
22 Std.



Fig. 16
Fmd/Chf
3 Std.

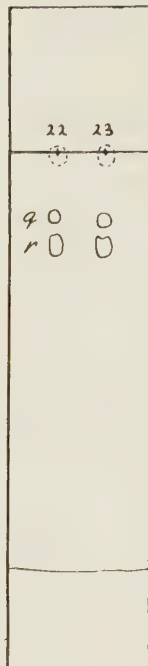


Fig. 17
Fmd/Be-Chf
– (9:1)
2,5 Std.

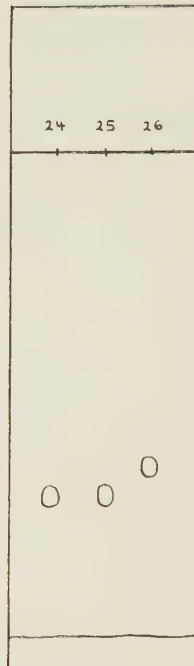


Fig. 18
Bu-Py-W-(3:2:3)
ges. mit H_3BO_3 ²⁹⁾
19 Std.

18 = 0,03 mg Tetra-O-acetyl-sarmentosid-A-säure-methylester (XI).

19 = 0,1 mg reacyliertes Verseifungsprodukt von Tri-O-acetyl-sarmentosid-E.

20 = 0,1 mg Acetylierungsprodukt von Sarmentosigenin E (XX) nach 3 Std. bei 20°.

21 = 0,03 mg Sarmentosigenin E (XX).

22 = 0,1 mg Acetylderivat von rohem Acarbäthogenin (XXII + etwas R-Genin).

23 = 0,1 mg Acetylderivat von krist. Acarbäthogenin (XXII + etwas R-Genin).

24 = 0,05 mg Zucker aus Mikrohydrolyse von Thollosid (XXVII).

25 = 0,05 mg L-Rhamnose.

26 = 0,05 mg D-Gulomethylose.

m = Fleck von Tri-O-acetyl-sarmentosid-E (XVI).

n = Fleck von Tetra-O-acetyl-sarmentosid-A-säure-methylester (XI).

o = Fleck von Mono-O-acetyl-sarmentosigenin-E (XXI).

p = Fleck von Sarmentosigenin E (XX).

q = vermutlicher Fleck von O-Acetyl-R-genin.

r = vermutlicher Fleck von Di-O-acetyl-acarbäthogenin.

Die Hydrolyse von Tholläthosid (im Mikromaßstab) mit HCl in Aceton lieferte ein Rohprodukt, das im Papierchromatogramm (Nr. 29 in Fig. 19) mehrere Flecke zeigte. Der starke Fleck s zeigte dieselbe Laufstrecke wie Acarbäthogenin. Dies ist ein weiterer Hinweis, dass XVII und XXXI, mithin auch VIII und XXVII, dasselbe Genin enthalten.

²⁹⁾ W. Nagata, Ch. Tamm & T. Reichstein, Festschrift für Herrn Prof. A. Stoll, p. 715, Basel 1957.

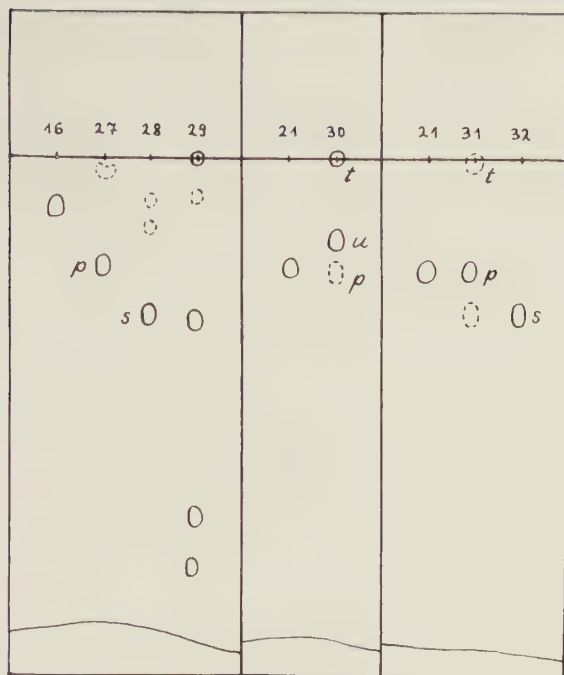


Fig. 19.

W/To-Bu-(4:1) 3 Std.

27 = 0,1 mg Reaktionsprodukt aus Sarmentosid E mit HCl in An nach 6 Tagen.

28 = 0,1 mg Reaktionsprodukt aus Acarbäthosid mit HCl in An nach 6 Tagen.

29 = 0,1 mg Reaktionsprodukt aus Tholläthosid mit HCl in An nach 6 Tagen.

30 = 0,1 mg Reaktionsprodukt aus Sarmentosigenin E mit KHCO_3 in Me-W nach 4 Tagen.31 = 0,1 mg Reaktionsprodukt aus Sarmentosigenin E mit KHCO_3 in Alk-W nach 8 Tagen.

32 = 0,03 mg Acarbäthogenin (XXII).

s = Fleck von Acarbäthogenin (XXII).

t = vermutlicher Fleck von K-Salz der Sarmentosigenin-A-säure.

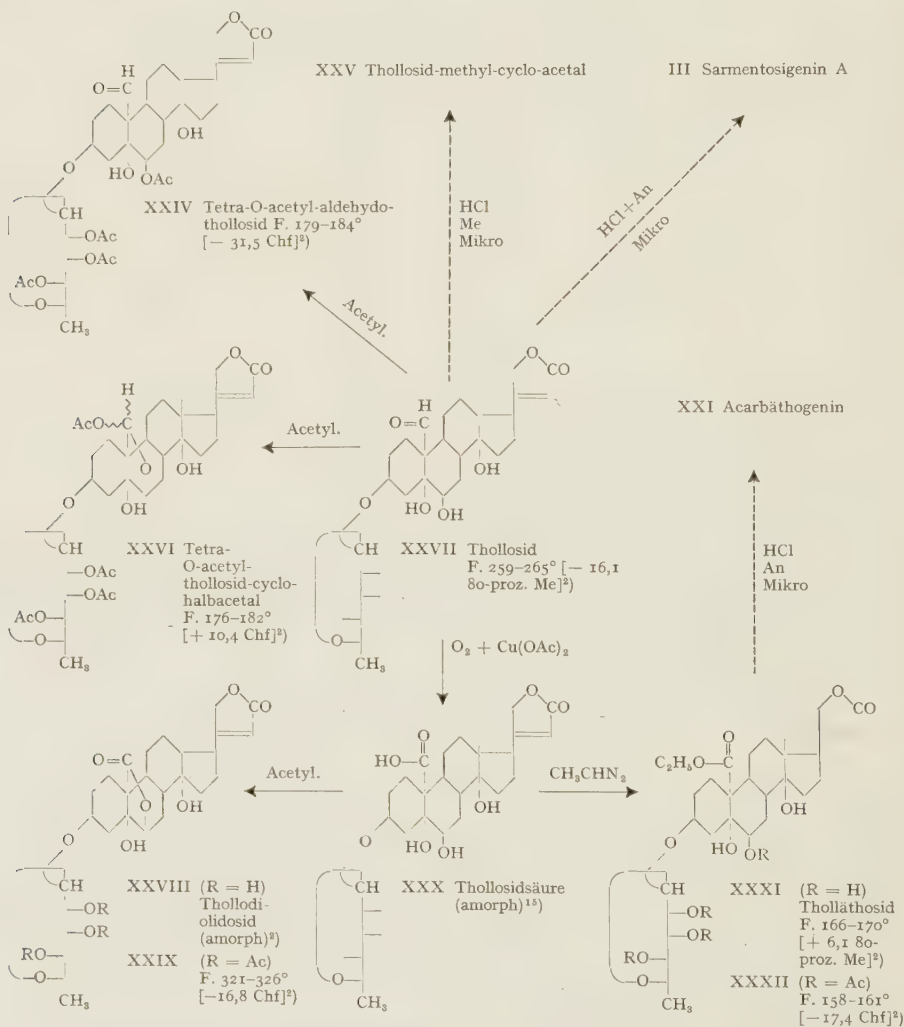
u = vermutlicher Fleck des Sarmentosigenin-A-säure-methylesters.

Der Zucker aus Thollosid wurde bisher nur im Papierchromatogramm untersucht. Im System Butanol-Pyridin-Wasser-(3:2:1,5) sowie in feuchtem Butanol zeigte er eine Laufstrecke wie Rhamnose, Glucomethylose, Gulomethylose und Allomethylose. Im System Butanol-Pyridin-Wasser-(3:2:3), gesättigt mit Borsäure²⁹⁾ (vgl. Fig. 18) liessen sich die zwei letztern ausschliessen, so dass vor allem Rhamnose und Gluco-methylose in Frage kommen³⁰⁾.

Auf Grund ihrer Analysenwerte, UV.-Spektren, Farbreaktionen mit H_2SO_4 und der biologischen Wirksamkeit¹⁰⁾²⁾ glauben wir, dass Sarmentosid D und Zenkosid ebenfalls dasselbe Aglykon enthalten und sich nur im Zuckeranteil voneinander unterscheiden. Die Laufstrecken im Papierchromatogramm

³⁰⁾ Über Versuche zur eindeutigen Identifizierung des Zuckers wird demnächst berichtet¹³⁾.

wären gut mit der Annahme verträglich, dass Sarmentosid D zur A-Gruppe und Zenkosid zur B-Gruppe (Tab. 1) gehört. Dasselbe gilt auch für das Paar: Bipindosid und Lokundjosid²⁾, sowie möglicherweise für die Substanzen R und S. Die Laufstrecken der 18 nachgewiesenen Glykoside könnten dann, wie in Fig. 20 angedeutet, insgesamt den Verbindungen von 10 verschiedenen Geninen mit 2 verschiedenen Zuckern zugeordnet werden, wobei lediglich vom Ouabagenin und dem Genin von Subst. α jeweils nur ein Vertreter aufgefunden wurde.



Abkürzungen wie bei erster Formelseite.

Von den genannten 18 Glykosiden dürften diejenigen, die eine Alkoxygruppe enthalten (Subst. Q, Tholläthosid (XXXI), Sarmentosid-A-säuremethylester (X) und Acarbäthosid (XVII)) Kunstprodukte darstellen, die wäh-

Glykoside nach steigender Polarität im
Papierchromatogramm geordnet³¹⁾

Genine, in Klammern bisher
noch unbekannte Genine

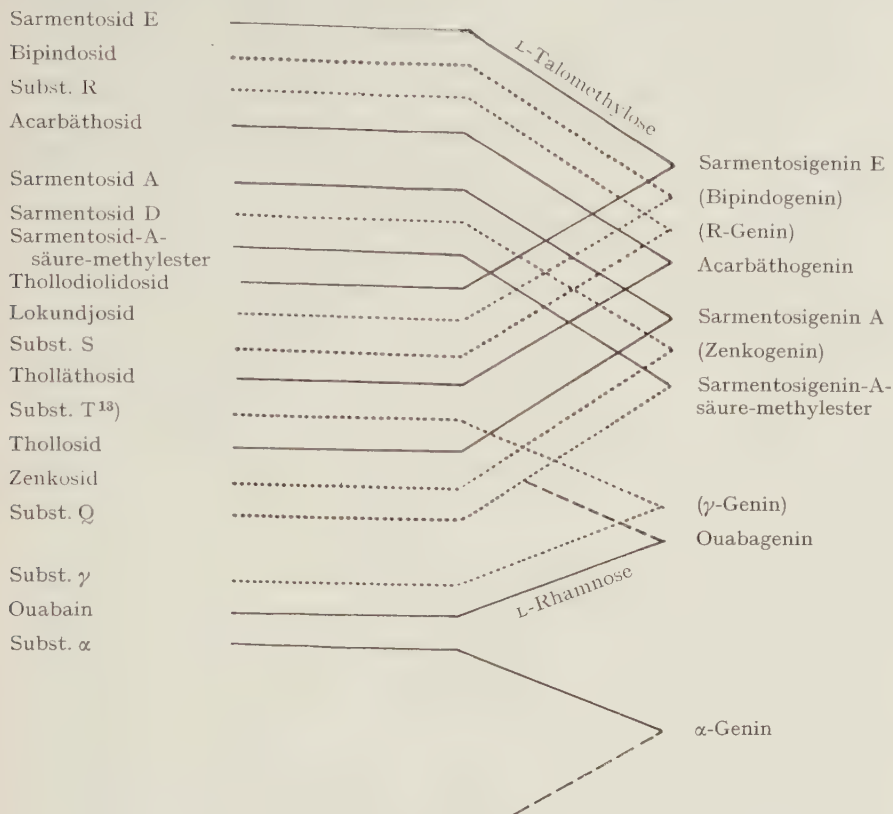


Fig. 20.

Verteilung der 18 Glykoside aus *S. Thollonii* auf 10 Genine und 2 Zucker.

Ausgezogen bedeutet: Zuordnung mindestens papierchromatographisch gesichert.

Punktiiert bedeutet: Zuordnung hypothetisch, nur auf Grund von Farbreaktionen und relativen Laufstrecken im Papierchromatogramm vermutet³²⁾.

Gestrichelt bedeutet: Zugehöriges Glykosid nicht aufgefunden.

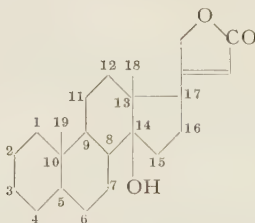
rend der Extraktion der Samen aus Sarmentosid E (XV) und Thollodiolidosid (XXVIII) mit Methanol bzw. Äthanol entstanden sind. Wie oben erwähnt, konnte bisher die Entstehung wenigstens von XXXI, X und XVII auf diesem Wege experimentell bewiesen werden. Sie bilden sich besonders bei leicht alkalischer Reaktion. Da sowohl bei der Extraktion der Glykoside aus den Samen Äthanol verwendet wurde, als auch die Reinigung der rohen Extrakte mit $\text{Pb}(\text{OH})_2$ in wässrigem Äthanol bei leicht alkalischer Reaktion stattfand, während Methanol meist nur zum Umkristallisieren oder Überspülen verwendet

³¹⁾ Bei den O-Acetyl-Verbindungen ist die Reihenfolge ganz anders. Die acetylierten Talomethyloside wandern dann *langsamer* als die Derivate des B-Zuckers.

³²⁾ Die Zuordnung der Stoffe T, Q und γ konnte inzwischen gesichert werden¹³⁾.

wurde, ist es begreiflich, dass die Äthylester XXXI und XVII in weitaus grösser Menge isoliert wurden³³⁾.

Begründung der Formeln. Die genannten hypothetischen Formeln der hier besprochenen Glykoside gründen sich vorwiegend auf Analogieschlüsse. Nimmt man aber an, dass Sarmentosid A und Thollosid das normale Cardenolidgerüst mit 3β -ständiger glycosidifizierter Hydroxylgruppe und der tertiären HO-Gruppe an C-14 besitzen (entspr. der hohen biologischen Wirksamkeit), so dürfte sich die Aldehydgruppe aus folgenden Gründen vermutlich an C-10 befinden. Die bei Oxydation der Aldehydgruppe entstehende Carboxylgruppe bildet im Sarmentosid E (und im Thollodiolidosid) ein Lacton, und zwar findet dieser Ringschluss an einer merklich gehinderten, aber mit Acetanhydrid in Pyridin acetylierbaren sekundären HO-Gruppe statt. Einer an C-13 befindlichen HOOC-Gruppe würde als entsprechende Stelle im Steringerüst für einen γ -Lactonring nur 15β - und 16β - zur Verfügung stehen. Die Bildung eines solchen Lactons scheint uns wenig wahrscheinlich. Die 7β -Hydroxygruppe ist äquatorial gerichtet, weniger reaktionsträg und würde einen δ -Lactonring geben, der nach dem IR.-Befund ebenfalls wenig wahrscheinlich ist. Dagegen stehen einer Carboxylgruppe an C-10 einige solcher Stellen zur Verfügung.



Da der Lactonring höchst wahrscheinlich ein 5-Ring ist, wäre zwischen 2β , 4β und 6β zu wählen. Die ersten zwei sind schon deshalb unwahrscheinlich, weil sie in den nicht lactonisierten Derivaten (sofern die 5β -Konfiguration zutrifft) äquatorial gerichtet sind und das entsprechende O-Acetyl-Derivat leicht verseifbar sein sollte. Einzig die 6β -HO-Gruppe (axial, acetylierbar, aber relativ reaktionsträg) entspricht weitgehend den gefundenen Eigenschaften.

Die genannten Stoffe besitzen insgesamt 2 tertiäre (nicht acetylierbare, gegen CrO_3 beständige) HO-Gruppen. (Insbesondere deutlich beim Sarmentosigenin E (XX), das nur ein Mono-O-acetyl-Derivat (XXI) liefert, das gegen CrO_3 relativ stabil ist.) Wir nehmen lediglich auf Grund von Analogieschlüssen an, dass sich eine an C- 5β und die zweite an C 14β befindet. Acarbäthogenin (XXII) sollte dann zwei benachbarte *cis*-ständige HO-Gruppen (an C-5 und C-6) besitzen. Wir haben dieses Genin daher mit NaJO_4 behandelt. Überraschenderweise verbrauchte es sogar nach 8 Tagen keine merkliche Menge Reagens. Wir glauben aber, dass dieses Resultat trotzdem nicht unbe-

³³⁾ Möglicherweise entstanden während der Verteilungschromatographie aus den beiden Lactonen XV und XXVIII mit dem n-Butanol auch noch kleine Mengen der entsprechenden Butylester, doch wurden diese bisher nicht identifiziert. Ob sie den Stoffen R und S entsprechen, soll noch geprüft werden¹³⁾.

dingt gegen die vorgeschlagenen Formeln spricht; denn *Wintersteiner & Moore*³⁴⁾ fanden, dass sowohl Cholestan-3 β ,5 α ,6 α -triol als auch ein 5 α -Cholestan-3 β ,7,8-triol gegen Perjodsäure weitgehend beständig sind; sie glauben, dass dies für alle tertiär-sekundären Glykole von Sterinen zutreffen könnte. Der Versuch zeigt aber, dass Formeln mit HO-Gruppe an C-2 oder C 4 nicht in Frage kommen, da das entsprechende Diol kaum gegen NaJO₄ beständig sein dürfte. Dass 3 β ,4 β -Dihydroxy-5 α -steroid von HJO₄ leicht angegriffen werden, wurde von *Wintersteiner & Moore*³⁴⁾ gezeigt. 2 β ,3 β - wie 3 β ,4 β -Dihydroxy-5 α -steroid werden von Pb(OAc)₄ leicht abgebaut³⁵⁾. Wenn Sarmentosid A ein 5 β -Steroid ist (wie dies aus Analogiegründen angenommen wurde), so sollten die 2 β - wie die 4 β -Hydroxygruppe auch viel reaktiver sein, als dies für die zweite sekundäre HO-Gruppe im Sarmentosid A usw. gefunden wurde. Die genannten Formelvorschläge benötigen natürlich noch wirkliche Beweise, dürften aber im Prinzip die beschriebenen Verknüpfungsreaktionen rationell erklären.

Der eine von uns (E. W.) dankt dem *Research Grant Committee, Eli Lilly and Company* Indianapolis, für finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil.

Alle Smp. sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis 200° etwa $\pm 2^\circ$, darüber etwa $\pm 3^\circ$. Substanzproben zur Drehung wurden 1 Std. bei 0,01 Torr und 60–70° getrocknet, zur Analyse immer bei 0,01 Torr über P₂O₅ und wo nichts anderes erwähnt 5 Std. bei 110°. Bei hygroskopischen Stoffen erfolgte die Einwaage im Schweinchen und ist dann vermerkt. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chf-Ae-(1:3) (oder anderem Lösungsmittel, wo vermerkt), Waschen mit 2-n. HCl, 2-n. Sodalösung und W, Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen im Vakuum. Ausführung der Absorptionschromatographie nach der Durchlaufmethode³⁶⁾ an alkalifreiem Al₂O₃³⁷⁾, der Verteilungschromatographie³⁸⁾, der Papierchromatographie der Cardenolide³⁸⁾³⁹⁾⁴⁰⁾ mit Nachweis durch *Kedde*-Reagens⁴¹⁾ und der Zucker⁴²⁾²⁹⁾ mit Nachweis durch Anilinphtalat⁴³⁾, Tüpfelprobe mit *Kedde*-Reagens³⁹⁾ und Zuckerprüfung⁴⁴⁾ nach früheren Angaben. Für Lactontitration wurde 2 Std. mit ca. 0,2-n. KOH in Alk gekocht und nach Verdünnung mit 50-proz. Alk potentiometrisch titriert.

Für die Bezeichnung der Lösungsmittel wurden folgende Abkürzungen benützt: Ae = Diäthyläther, AcOH = Eisessig, (Ac)₂O = Acetanhydrid, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = n-Butanol, Chf = Chloroform, Di = Dioxan, Fmd = ent-

³⁴⁾ O. Wintersteiner & M. Moore, J. Amer. chem. Soc. **72**, 1923 (1950).

³⁵⁾ C. Djerassi & R. Ehrlich, J. org. Chemistry **19**, 1351 (1954), und frühere Literatur daselbst.

³⁶⁾ T. Reichstein & C. W. Shoppee, Disc. Trans. Farad. Soc. Nr. 7, 305 (1949).

³⁷⁾ Bereitet nach J. v. Euw, A. Lardon & T. Reichstein, Helv. **27**, 1287, p. 1292, Fussnote 2 (1944), aber nur bei 180° reaktiviert.

³⁸⁾ H. Hegedüs, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. **36**, 357 (1953).

³⁹⁾ O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **34**, 108 (1951).

⁴⁰⁾ E. Schenker, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **37**, 680 (1954).

⁴¹⁾ D. L. Kedde, Diss. Leiden 1946, Ausführung nach I. E. Bush & D. A. H. Taylor, Biochem. J. **52**, 643 (1952).

⁴²⁾ A. Jeanes, C. S. Wise & R. J. Dimler, Anal. Chemistry **23**, 415 (1951).

⁴³⁾ S. M. Partridge, Nature **164**, 443 (1949); F. Cramer, Papierchromatographie, 2. Aufl., p. 69 (Weinheim 1953).

⁴⁴⁾ P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein, Helv. **34**, 1740 (1951).

säuertes Formamid³⁹⁾, Me = Methanol, Pe = Petroläther (Sdp. 45–55°), Py = Pyridin, To = Toluol, W = Wasser. Verhältniszahlen, z. B. -(1:3) bedeuten immer das Verhältnis der Volumina.

Tri-O-formyl-convallatoxin. 41 mg Convallatoxin in 0,8 ml abs. Py wurden bei 0° langsam mit einem eine Std. vorher bereiteten Gemisch von 3,5 ml 99-proz. Ameisensäure und 1,4 ml Ac₂O versetzt und anschliessend 16 Std. bei 20° stehengelassen²¹⁾ 45). Aufarbeitung mit Chf-Alk-(2:1)⁴⁶⁾ (Waschen mit KHCO₃- statt Na₂CO₃-Lösung) gab 43 mg neutrales Rohprodukt. Aus Me-Ae 33 mg farblose kurze Spiesse, nach Umkristallisieren Smp. 280–286° (Zers.), $[\alpha]_D^{25} = -12,2^\circ \pm 2^\circ$ (c = 1 in 95-proz. Di). Kein Gewichtsverlust bei Trocknung.

C₃₂H₄₂O₁₃ (634,6) Ber. C 60,56 H 6,67% Gef. C 60,44 H 6,77% (OAB)

UV.-Absorptionsspektrum vgl. Tab. 2. Das Produkt war in Ae und Chf fast unlöslich, mässig lösl. in An, Me und 80-proz. Me, besser in 95-proz. Di. Infolge der geringen Löslichkeit konnte es im Papierchromatogramm nicht geprüft werden.

Eine analoge Formylierung von 39 mg Convallatoxin wie oben, aber 16 Std. bei –10°, gab 40 mg Rohprodukt und daraus 30 mg Kristalle, Smp. 280–286° (Zers.). Für Sarmentosid A wurde daher die Formylierung immer bei –10° ausgeführt. Es tritt dabei auch bedeutend weniger CO-Entwicklung auf als bei 20°.

Verseifung von Triformyl-convallatoxin. 30 mg Tri-O-formyl-convallatoxin wurden in 4,5 ml Di gelöst, mit der Lösung von 30 mg KHCO₃ in 1,1 ml W versetzt und 4 Tage bei 18° stehengelassen. Die Aufarbeitung mit Chf-Alk-(2:1) gab 27 mg Rohprodukt. Aus Me-Ae 19 mg zu Drusen vereinigte Nadeln, Smp. 249–252°. Nach Mischprobe und Papierchromatogramm identisch mit authentischem Convallatoxin.

Formylierung von Sarmentosid A zu II. 95 mg Sarmentosid A (VIII) wurden wie oben 16 Std. bei –10° formyliert. Aufarbeitung mit Chf gab 120 mg neutrales Rohprodukt, das nicht kristallisierte, aber nach Papierchromatogramm (Nr. 3 in Fig. 10) fast einheitlich war. Es wurde an Silicagel⁴⁷⁾ chromatographiert. Die Fr. 21–32 (93 mg, eluiert mit Chf-Me von 8–15% Me-Gehalt) gaben aus Me-Ae 76 mg 6-Mono-O-formyl-sarmentosid-A (II) in farblosen, flachen Nadeln, Smp. 250–258°; aus An-Ae flache Nadeln, Smp. 254–258°, $[\alpha]_D^{25} = -44,1^\circ \pm 4^\circ$ (c = 0,45 in An). Trocknung (Schweinchen) gab 3,1% Gewichtsverlust.

C₃₀H₄₂O₁₂ + H₂O (612,7) Ber. H₂O 2,9%

C₃₀H₄₂O₁₂ (594,63) Ber. C 60,59 H 7,12% Gef. C 60,15 H 7,18% (OAB)

Die Kristalle waren fast unlöslich in Ae und Chf, mässig löslich in An, Di und Me. Die Farbreaktion mit H₂SO₄ war fast gleich wie bei VI. Im Papierchromatogramm (Nr. 1–3 in Fig. 10) lief II rascher als Sarmentosid A (VIII) aber langsamer als das rohe Tri-O-formyl-derivat VII.

Verseifung von II. 15 mg krist. 6-Mono-O-formyl-sarmentosid-A (II) vom Smp. 250–258° wurden in 1,5 ml Me gelöst, mit der Lösung von 15 mg KHCO₃ in 0,8 ml W versetzt und 4 Tage bei 20° stehengelassen. Die Aufarbeitung mit Chf-Alk-(2:1) gab 15 mg Rohprodukt, das im Papierchromatogramm nur den Fleck von Sarmentosid A zeigte. Aus Me-Ae kristallisierten Drusen vom Smp. 228–232°. Die Kristalle gaben nach Mikro-Acetylierung im Papierchromatogramm wieder die zwei Flecke von VI und IX.

Identifizierung von «Sarmentosid C»¹⁰⁾ mit Sarmentosid A. «Sarmentosid C» aus Me-Ae zeigte Smp. 238–244°, $[\alpha]_D^{25} = -32,3^\circ \pm 5^\circ$ (c = 0,36 in 80-proz. Me). Es zeigte im UV. (vgl. Tab. 2) eine deutliche Aldehydbande. Die Mischprobe mit Sarmentosid A

⁴⁵⁾ Analoge Versuche mit Convallatoxin und Panstrosid ohne Py sowohl bei 20° wie bei 0° gaben immer Gemische, die nach Papierchromatogramm möglicherweise Anhydroprodukte enthielten.

⁴⁶⁾ Das Reaktionsprodukt war schwer löslich in Chf.

⁴⁷⁾ SiO₂ engporig, 0,15–0,3 mm Korngrösse «für Chromatographie», bezogen von Dr. Bender & Dr. Hobein AG., Zürich 42.

schmolz gleich. Auch die Laufstrecken im Papierchromatogramm sowie die Farbreaktionen mit H_2SO_4 waren gleich.

Acetylierung von «Sarmentosid C». 0,8 mg «Sarmentosid C» wurden mit 80 mg $(\text{Ac})_2\text{O}$ und 100 mg abs. Py 21 Std. bei 36° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab ca. 1 mg Rohprodukt. Dieses zeigte im Papierchromatogramm zwei Flecke mit Laufstrecken wie VI (stark) und IX (schwächer).

Formylierung von «Sarmentosid C». 43 mg «Sarmentosid C» wurden, wie bei Tetra-O-formyl-sarmentosid-A beschrieben, bei -10° formyliert. Das Rohprodukt (49 mg) zeigte im Papierchromatogramm praktisch nur einen Fleck, dessen Laufstrecke mit dem amorphen Formylierungsprodukt aus Sarmentosid A genau übereinstimmte.

Identifizierung von «Sarmentosid-A-Schneckenferment-Präparat»¹⁰⁾ mit Sarmentosid A. Die genannten Präparate zeigten im Papierchromatogramm genau gleiche Laufstrecken. 0,9 mg des Schneckenferment-Präparats wurden wie oben acetyliert. Das Rohprodukt zeigte im Papierchromatogramm wieder die zwei Flecke von VI (stark) und IX (schwächer).

Sarmentosid-A-cyclo-methylacetal (IV). 187 mg reines Sarmentosid A wurden in 10 ml Me gelöst, mit 0,1 ml konz. HCl versetzt und 6 Tage im Dunkeln bei 20° stehengelassen. Danach hatten sich reichlich Kristalle gebildet, die abgenutscht, mit W gewaschen und getrocknet wurden. 108 mg Nadeln, Smp. $226-232^\circ$. Das Filtrat wurde mit Soda auf pH 6 gebracht, im Vakuum auf ca. 1 ml eingengt und das pH auf 7 gestellt. Es kristallisierten weitere 40 mg Nadeln, Smp. $230-236^\circ$. Die Mutterlauge gab beim Ausschütteln mit Chf-Alk-(2:1) noch 40 mg Substanz. Die Kristalle waren papierchromatographisch einheitlich. Die letzten durch Ausschütteln gewonnenen 40 mg gaben im Papierchromatogramm (Nr. 5 in Fig. 10) ausser demselben Fleck (entspr. IV) noch zwei schwache, von denen einer dem Sarmentosid A entsprach. Zur Reinigung wurden die Kristalle in wenig Me gelöst, mit W verdünnt, im Vakuum vom Me befreit und bei 0° kristallisiert. Farblose Nadeln, Smp. $244-248^\circ$, $[\alpha]_D^{25} = -28,2^\circ \pm 5^\circ$ ($c = 0,40$ in Me).

$\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_{11}$ (580,7)	Ber. C 62,05	H 7,64	O 30,31	$-\text{OCH}_3$ 5,34%
	Gef. „ 62,18	„ 7,87	„ 30,79	„ 5,49% (OAB)
	„ „ 62,22	„ 7,63	(A.P.)	

UV.-Absorptionsspektrum vgl. Tab. 2. Zuckerprüfung: positiv. Die Kristalle waren schwer löslich in An, etwas besser in Me. Biolog. Prüfung siehe Theoret. Teil.

Tri-O-acetyl-sarmentosid-A-cyclo-methylacetal (V). 56 mg Sarmentosid-A-cyclo-methylacetal (IV) vom Smp. $230-236^\circ$ wurden wie üblich 21 Std. bei 36° acetyliert. Die Aufarbeitung gab 76 mg neutrales Rohprodukt, das im Papierchromatogramm (Fig. 11) praktisch einheitlich war. Aus An-Ae 54 mg farblose Spiesse, Smp. $258-263^\circ$. Zweimaliges Umkristallisieren lieferte zu Drusen vereinigte Blättchen, Smp. $264-267^\circ$, $[\alpha]_D^{24} = -22,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1$ in Chf). Die Kristalle waren schwer löslich in Ae, gut lösl. in Chf, An und Me.

$\text{C}_{36}\text{H}_{50}\text{O}_{14}$ (706,8)	Ber. C 61,17	H 7,13	$-\text{OCH}_3$ 4,39%
	Gef. „ 61,46	„ 7,38	„ 5,37% (OAB)

Hydrolyse von Sarmentosid A im Mikromaßstab. 3,6 mg Sarmentosid A wurden in Me gelöst und im Vakuum bei 40° eingedampft. Der amorphe Rückstand⁴⁸⁾ wurde mit 0,8 ml Mannich-Reagens⁴⁹⁾ versetzt und die Lösung im Dunkeln verschlossen bei 20° stehengelassen. Nach 4, 9, 13, 19 und 38 Tagen wurden kleine Proben direkt auf präpariertes Papier aufgetragen und in den Systemen W/To-Bu-(4:1) oder W/To-Bu-(2:1) chromatographiert (vgl. als Beispiel Nr. 7 in Fig. 10). Danach zeigte sich der Geninfleck (G) bereits nach 4 Tagen, ebenso die 3 Flecke der α -, β - und γ -Anhydrogenine⁸⁾. Der Fleck A des Sarmentosids A war aber erst nach 38 Tagen praktisch verschwunden. Nach dieser Zeit war der G-Fleck aber nicht wesentlich stärker, wohl aber die Flecke von α - und β -Genin. Der Zucker zeigte erwartungsgemäss eine Laufstrecke wie L-Talomethylose.

⁴⁸⁾ Krist. Sarmentosid A ist in An sehr schwer löslich. Das wie oben amorph gemachte Präparat löst sich dagegen gut, ohne beim Stehen Kristalle abzuschneiden.

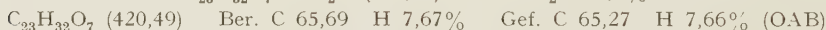
⁴⁹⁾ Gemisch von An mit 1% konz. HCl²⁵⁾.

Ein zweiter Versuch wurde wie oben, aber mit 1% konz. HCl in Di durchgeführt. Das Ergebnis war sehr ähnlich. Der G-Fleck schien etwas deutlicher⁵⁰⁾. Weitere Versuche mit weniger HCl oder Zusatz von etwas W gaben einen eher schwächeren G-Fleck.

Sarmentosigenin A (III). 257 mg Sarmentosid A wurden wie oben amorph gemacht, in 50 ml Di gelöst, mit 0,5 ml konz. HCl versetzt und im Dunkeln unter CO₂ verschlossen 8 Tage bei 20° stehengelassen. Dann wurde mit 100 ml W versetzt und durch eine kleine Säule von gut gewaschenem Anionenaustauscher (Amberlite IR-4B in OH⁻-Form) filtriert und mit 50 ml W nachgewaschen. Das neutrale Filtrat wurde im Vakuum auf 20 ml eingengt, wobei sich Kristalle abschieden. Abnutschen, Waschen mit W und Trocknen gab 92 mg Nadeln, nach Papierchromatogramm lag ein Gemisch von Sarmentosid A, γ - und α -Anhydrogenin vor (nicht weiter untersucht). Das wässrige Filtrat inkl. Waschwasser wurde erneut auf 20 ml eingengt und mit Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die gewaschenen und getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen im Vakuum 105 mg neutrales Rohprodukt. Es gab im Papierchromatogramm alle früher festgestellten Flecke, insbesondere auch den Fleck G.

Die wässrige Phase lieferte beim Eindampfen im Vakuum 50 mg Zuckersirup. Nach Reinigung aus An-Ae 27 mg krist. L-Talomethylse, Smp. 127–133°.

Die 105 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt wurden zunächst an Al₂O₃ chromatographiert. Die Fr. 10–18 (57 mg, eluiert mit Chf-Me von 4–15% Me-Gehalt) enthielten das gesamte Genin. Eine kleine Menge (ca. 1 mg) liess sich sogar durch direkte Kristallisation daraus nahezu rein abscheiden. Der ganze Rest (56 mg) wurde durch präparative Papierchromatographie²⁶⁾ auf 19 Papierblättern im System W/To-Bu-(2:1) getrennt. Die ausgeschnittenen G-Zonen gaben 22 mg Eluat, das im Papierchromatogramm nur noch den G-Fleck zeigte. Vorreinigung durch kleine Chromatographie an Silicagel⁴⁷⁾ und Umkristallisieren aus Me-Ae gab 11,2 mg farblose Spiesse (teilweise in Drusen), Smp. 143–149°, $[\alpha]_D^{23} = +16,5^\circ \pm 4^\circ$ (c = 0,53 in Me). UV.-Spektrum: Fig. 1 und Tab. 2. Das Präparat (EWE 48) lieferte nach zweimaligem Umkristallisieren eine hochschmelzende Form, schmolz bei 150° nur teilweise, Hauptmenge bei 220–230°. Die Laufstrecke im Papierchromatogramm war für beide Formen gleich. Trocknung zur Analyse (Schweinchen) brauchte 15 Std. (bei 0,01 Torr und 110°) bis zur Gewichtskonstanz und gab 10,5% Verlust.



Der Stoff war schwer löslich in An, gut in Me. Im Papierchromatogramm (im System W/To-Bu-(4:1)) lief er ca. 1,6mal schneller als Antiarigenin (vgl. spätere Publ. von R. P. Martin).

Mikroacetylierung von Sarmentosigenin A. 0,5 mg krist. Sarmentosigenin A (EWE 48) wurden wie üblich 16 Std. bei 34° acetyliert. Das neutrale Rohprodukt zeigte die in Nr. 13 von Fig. 12 wiedergegebenen zwei Flecke.

Sarmentosid-A-säure-methylester (X) aus Substanz α (XIII). 50 mg Subst. α (XIII) wurden wie früher beschrieben²⁾ vom Kation befreit und lieferten 41 mg freie Säure XII. Sie wurden in 6 ml Me-Chf-(3:2) gelöst, mit ätherischer CH₂N₂-Lösung bis zur bestehenden Gelbfärbung versetzt und 15 Min. bei 20° stehengelassen. Eindampfen gab 43 mg rohen Methylester, der bisher nicht kristallisierte. Im Papierchromatogramm gab das Präparat neben Spuren anderer nur einen Hauptfleck mit Laufstrecke wie Sarmentosid D (also viel schneller als XII).

Tetra-O-acetyl-Derivat XI. 32 mg von obigem Präparat wurden mit 1 ml abs. Py und 0,8 ml (Ac)₂O 16 Std. auf 36° erwärmt. Die Aufarbeitung gab 43 mg neutrales Rohprodukt. Aus Me-Ae 33 mg farblose Nadeln, Smp. 283–285°, der Smp. blieb nach Umkristallisieren unverändert. $[\alpha]_D^{24} = -23,0^\circ \pm 2^\circ$ (c = 1 in An). Nach Mischprobe, Farbreaktion mit H₂SO₄ und Papierchromatogramm identisch mit dem aus Sarmentosid A hergestellten Präparat von Tetra-O-acetyl-sarmentosid-A-säure-methylester (XI)⁸⁾.

⁵⁰⁾ Es ist trotzdem fraglich, ob die Ausbeute an Genin bei Hydrolyse in Di besser ist als in An.

Hydrolyse von Subst. α im Mikromaßstab. 1,9 mg krist. Subst. α wurden mit 0,8 ml Mannich-Reagens¹⁹⁾ versetzt und bei 20° im Dunkeln 12 Tage stehengelassen. Die Kristalle gingen nur langsam und nicht völlig in Lösung. Bei direkter Prüfung der Reaktionslösung im Papierchromatogramm (vgl. Fig. 13) wurde nach 9–12 Tagen stets nur 1 Hauptfleck beobachtet, der ca. doppelt so rasch lief als Subst. α , aber immer noch langsamer als Ouabagenin.

Einwirkung von KHCO_3 in Me auf Tri-O-acetyl-sarmentosid-E (XVI). 12 mg Tri-O-acetyl-sarmentosid-E (XVI) wurden in 1,2 ml Me gelöst, mit der Lösung von 12 mg KHCO_3 in 0,3 ml W versetzt und 12 Tage im Dunkeln bei 20° stehengelassen. Dann wurde im Vakuum vom Me befreit, mit wenig W versetzt und mit Chf-Alk-(3:2) ausgeschüttelt. Die mit wenig W gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge lieferten beim Eindampfen 6 mg Rückstand. Er zeigte im Papierchromatogramm (Fig. 14) 3 Flecke entspr. Sarmentosid E (schwach), Sarmentosid-A-säure-methylester (X) (stark) und einem entspr. Subst. α (XIII) (mittel). Eine Probe (0,5 mg) wurde acetyliert. Das rohe Acetylierungsprodukt zeigte im Papierchromatogramm (Fig. 15) 2 Flecke, entsprechend XVI und XI.

Eine analoge Verseifung wurde mit 1 mg Sarmentosid E (XV) durchgeführt. Bereits nach 3 Tagen zeigte das Papierchromatogramm die selben 3 Flecke wie im obigen Versuch (lediglich der Fleck von XV war noch etwas stärker als oben nach 12 Tagen).

Dihydro-sarmentosid-E (XIV). 60 mg Sarmentosid E wurden in 15 ml reinem AcOH mit 18,8 mg PtO_2 bei 20° hydriert. Die Gasaufnahme war nach 20 Min. beendet. Filtration und Eindampfen gab 60 mg krist. Rückstand, schwer löslich in W, Me, Alk, AcOH, An und Di, besser in Alk-W-(1:1) und gut in Py. Umkristallisieren aus Py-Ae gab 51 mg kleine runde Drusen, Smp. 330–335° (Zers.). Zur Analyse wurde aus Alk-W-(1:1) durch Einengen im Vakuum und Stehen bei 0° kristallisiert. Farblose Blättchen, Smp. 330–335° (Zers.), $[\alpha]_D^{24} = -15,9^\circ \pm 5^\circ$ ($c = 0,40$ in abs. Py). Trocknung (Schweinchen) gab 0,9% Gewichtsverlust.

$\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{O}_{11}$ (566,62) Ber. C 61,47 H 7,47% Gef. C 61,02 H 7,62% (OAB)

Lactontitration: Verbrauch 2,06 Äqu. KOH (ber. auf 566,6). IR.-Spektrum siehe Fig. 3. UV.-Absorptionsspektrum zeigte zwischen 210–250 m μ keine selektive Absorption. Im Papierchromatogramm wurde nur ein Fleck erhalten⁵¹⁾.

Sarmentosid-A-säure (XII) aus Sarmentosid A (VIII). 30 mg Sarmentosid A (VIII) wurden in Me gelöst und im Vakuum bei 40° eingedampft. Der amorphe Rückstand wurde in 5 ml W gelöst, mit 2 ml kalt gesättigter Cu^{II} -Acetat-Lösung versetzt und bei 20° mit einem langsamen Strom von O_2 behandelt. Der Verlauf der Reaktion wurde papierchromatographisch verfolgt. Nach 12 Tagen war nur noch sehr wenig Ausgangsmaterial nachweisbar. Es wurde durch eine kleine Säule eines gut gewaschenen Kationen-Austauschers (Amberlite IR 120 in H^+ -Form) filtriert und mit 40 ml Me-W-(1:1) nachgewaschen. Das Filtrat lieferte beim Eindampfen 32 mg rohe Säure XII. Laufstrecke im Papierchromatogramm gleich wie Subst. α (XIII); Sarmentosid E war nicht nachweisbar.

Acetylierung von XII. Die 32 mg rohe Säure XII wurden wie oben acetyliert. Das neutrale Rohprodukt (29 mg) gab im Papierchromatogramm 3 Flecke entspr. VI (schwach), IX (schwach) und XVI (stark). Es wurde an Al_2O_3 chromatographiert. Die Fr. 3–12 (18,1 mg, eluiert mit Be-Chf-Gemischen, reinem Chf und Chf-Me-(99,5:0,5)) gaben aus Me-Ae 13,5 mg (38% ber. auf VIII) zu Drusen vereinigte farblose Spiesse, Smp. 304–308°. Nach Mischprobe, Farbreaktion und Papierchromatogramm identisch mit Tri-O-acetylsarmentosid-E (XVI).

Hydrolyse von Sarmentosid E (XV) mit HCl in An. Ein Vorversuch im Mikromaßstab zeigte, dass die Hydrolyse von XV mit HCl in An sehr einheitlich verlief und nach 6 Tagen praktisch beendet war. Das Papierchromatogramm (Nr. 27 in Fig. 19) zeigte neben dem Hauptfleck nur noch einen zweiten schwachen Fleck. Nach 16 Tagen war das Bild praktisch gleich.

⁵¹⁾ Entwickelt mit SbCl_3 , R. Neher & A. Wettstein, Helv. **34**, 2278 (1951); D. Lawday, Nature **170**, 415 (1952).

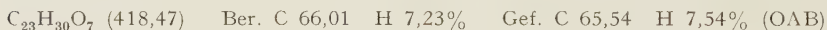
216 mg Sarmentosid E wurden in Me gelöst und im Vakuum eingedampft. Der amorphe Rückstand wurde in 20 ml *Mannich*-Reagens⁴⁹) gelöst und 7 Tage bei 20° im Dunkeln stehengelassen. Es wurde mit 40 ml W versetzt, im Vakuum auf 20 ml eingengt, mit 20 ml Me versetzt und 30 Min. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde das Me im Vakuum entfernt und die zurückgebliebene Lösung zunächst fünfmal mit je 30 ml Chf-Alk-(9:1) und dann noch fünfmal mit je 30 ml Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die wie üblich gewaschenen und getrockneten Auszüge lieferten 4 mg neutralen Chf-Alk-(9:1)-Extrakt (nicht untersucht) und 136 mg neutralen Chf-Alk-(2:1)-Extrakt. Letzterer gab aus Me-Ae 121 mg Sarmentosigenin E (XX) in farblosen Blättchen, Smp. 168–177°. Es gab im Papierchromatogramm nur einen Fleck.

Die ausgeschüttelte saure wässrige Lösung und das erste Waschwasser wurden vereinigt, durch eine gewaschene Säule eines Anionenaustauschers (Amberlite IR-4B in –OH-Form) filtriert und mit W nachgewaschen. Das Filtrat lieferte beim Eindampfen 49 mg rohen Zuckersirup. Zur Reinigung wurde mit wenig abs. Alk verflüssigt, mit An verdünnt und die trübe Lösung durch ein gut gewaschenes Filter aus Kohle auf Kieselgur (Hyflo-Super-Cel) filtriert und mit An nachgewaschen. Das Filtrat wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand bei 0,01 Torr getrocknet. Aus An-Ae 27 mg L-Talomethylose in farblosen Prismen, Smp. 122–127°. Umkristallisieren (Verflüssigung mit SpurAlk, dann aus An-Ae) gab zu Drusen vereinigte Spiesse, Smp. 130–134°, $[\alpha]_D^{24} = -20,5^\circ \pm 2^\circ$ (nach 15 Min.) und $-20,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,12$ nach 14 Std. in W). Nach Mischprobe und Papierchromatogramm identisch mit authentischem Material⁵⁾.

Sarmentosigenin E (XX). Zweimaliges Umkristallisieren aus An-Ae gab farblose Blättchen, bei Erwärmen bei ca. 80–90° Trübung, Smp. 169–175°, $[\alpha]_D^{23} = +32,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,98$ in An). Trocknung zur Analyse (Schweinchen) bei 100° gab 2,07% Gewichtsverlust.

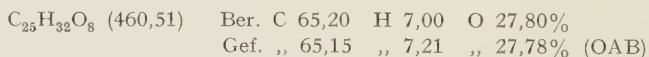


Trocknung 15 Std. bei 140° (Schweinchen) gab 8,45% Gewichtsverlust.



Lactontitration ergab Verbrauch von 2,04 Äqu. KOH (ber. auf 436,49). UV.-Spektrum siehe Fig. 1 und Tab. 2. IR.-Spektrum siehe Fig. 4. Die Substanz war relativ gut löslich in An, schwer löslich in Chf und Ae.

Mono-O-acetyl-sarmentosigenin E (XXI). 52 mg Sarmentosigenin E (XX) wurden mit 1,5 ml abs. Py und 1 ml (Ac)₂O 2 Tage bei 20° stehengelassen. Eindampfen im Vakuum gab einen krist. Rückstand, der in Chf schwer löslich war. Daher wurde direkt aus Me-Ae kristallisiert: 42 mg längliche farblose Blättchen, Smp. 300–305°, aus An-Ae Smp. 303–309° (Zers.), $[\alpha]_D^{24} = +23,0^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,49$ in Me). Trocknung gab keinen Gewichtsverlust.



Das Präparat gab im Papierchromatogramm nur einen Fleck. IR.-Spektrum siehe Fig. 5.

Prüfung des Acetylierungsverlaufs von XX. 3 Proben von je 0,5 mg Sarmentosigenin E wurden wie oben zur Acetylierung angesetzt und nach 3, 6 und 14 Std. aufgearbeitet und im Papierchromatogramm geprüft. Nach 3 Std. waren zwei starke Flecke entspr. XX und XXI feststellbar, aber kein Zwischenfleck (vgl. Fig. 16); nach 6 Std. war nur noch wenig XX sichtbar und nach 14 Std. gar keines.

Dihydro-sarmentosigenin E (XIX). 6,6 mg Sarmentosigenin E (XX) wurden in der Apparatur nach *Clauson-Kaas*⁵²⁾ mit Pt in Eisessig hydriert. Es wurde die 0,92 Äqu. H₂ entspr. Menge Gas aufgenommen (ber. auf C₂₃H₃₀O₇ + H₂O). Filtration, Eindampfen und Trocknung bei 0,01 Torr gab ein farbloses Harz XIX, das zur Aufnahme des IR.-Spektrums (Fig. 6) diente.

⁵²⁾ N. Clauson-Kaas & F. Limberg, Acta chem. scand. **1**, 884 (1947).

Einwirkung von KHCO_3 in Me-W auf Sarmentosigenin E (XX). 1,5 mg Sarmentosigenin E (XX) wurden in 0,3 ml Me gelöst, mit der Lösung von 1,5 mg KHCO_3 in 0,06 ml W versetzt und 4 Tage bei 20° im Dunkeln stehengelassen. Dann wurde direkt im Papierchromatogramm geprüft (Nr. 30 in Fig. 19). Der Fleck von XX war nur noch sehr schwach. Der starke Fleck dürfte dem unbekannten Sarmentosigenin-A-säure-methylester entsprechen. Am Start war noch ein mässig starker Fleck sichtbar, der von Sarmentosigenin-A-säure (bzw. ihrem K-Salz) herrühren dürfte.

Acarbäthosid (XVII) aus XII. 29 mg Sarmentosid-A-säure (XII) aus Subst. α bereitet²) wurden in 1 ml Me gelöst, mit ätherischer Diazoäthanlösung bis zur bleibenden Gelbfärbung versetzt und 15 Min. bei 20° stehengelassen. Eindampfen gab 31 mg amorphes Rohprodukt, das im Papierchromatogramm genau dieselbe Laufstrecke zeigte wie authentisches Acarbäthosid²).

Tetra-O-acetyl-Derivat XVIII. 26 mg des obigen teilsynthetischen Präparats XVII wurden mit 0,6 ml abs. Py und 0,4 ml $(\text{Ac})_2\text{O}$ 22 Std. auf 35° erwärmt. Die Aufarbeitung gab 30 mg neutrales Rohprodukt. Aus Me-Ae 21 mg Nadeln, Smp. 234–237°. Nach Umkristallisieren farblose Nadeln, Smp. 238–240°, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -28,1^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,81$ in Chf). Nach Mischprobe, Färbung mit H_2SO_4 , Papierchromatogramm und IR.-Spektrum (Fig. 8) identisch mit Tetra-O-acetyl-acarbäthosid (XVIII)²).

Hydrolyse von Acarbäthosid (XVII) mit HCl in An. Ein Vorversuch im Mikromaßstab zeigte, dass die Spaltung mit Mannich-Reagens⁴⁹) nach 6 Tagen beendet war; das Papierchromatogramm (Nr. 28 in Fig. 19) zeigte praktisch nur einen Fleck. Nach 13 Tagen war das Bild kaum verändert.

210 mg an Silicagel gereinigtes amorphes Acarbäthosid, das noch Subst. R enthielt²), wurden in 20 ml Mannich-Reagens gelöst und 7 Tage bei 20° im Dunkeln stehengelassen. Aufarbeitung wie bei Spaltung von Sarmentosid E gab 155 mg rohes Genin, das im Papierchromatogramm (wie Nr. 28 in Fig. 19) einen Hauptfleck und zwei weitere sehr schwache Flecke zeigte. Die wässrige Phase gab 33 mg Zuckersirup. Aus An-Ae 17 mg krist. r-Talomethylose, Smp. 125–130°, nach Umkristallisieren farblose Spiesse, Smp. 132–136°, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -20,5^\circ \pm 2^\circ$ (nach 20 Min.) und $-19,6^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,96$ nach 16 Std. in W). Nach Mischprobe und Papierchromatogramm identisch mit authentischem Material.

Acarbäthogenin (XXII). 86 mg des obigen rohen Genins gaben teils direkt, teils nach Chromatographie an Silicagel aus An-Ae 59 mg zu Drusen vereinigte Spiesse, Smp. 175–180°. Nach dreimaligem Umkristallisieren, Smp. 180–183°.

$\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{O}_8$ (464,54) Ber. $-\text{OC}_2\text{H}_5$ 9,70% Gef. 9,05% (OAB)

Lactontitration gab Verbrauch von 2,09 Äqu. KOH (ber. auf 464,54). Die Kristalle waren schwer löslich in Chf, gut lösl. in Me und An. IR.-Spektrum vgl. Fig. 7. Die Kristalle gaben im Papierchromatogramm nur einen Fleck, enthielten aber noch eine Verunreinigung (vermutlich R-Genin), denn nach Acetylierung im Mikromaßstab mit oder ohne Py gab das rohe Acetylderivat im Papierchromatogramm immer 2 Flecke (Nr. 23 in Fig. 17). Dasselbe Resultat gaben die rohen Kristalle.

Einwirkung von NaJO_4 auf XXII. Ca. 2 mg Acarbäthogenin (XXII) vom Smp. 180–183° (noch etwas R-Genin-haltig) wurden in 2 ml Me gelöst, mit 2 ml (genau gemessen) ca. 0,1-n. NaJO_4 -Lösung vom pH 5 versetzt und bei 20° im Dunkeln stehengelassen. Nach 4 Tagen wurde nach Scott⁵³) mit 0,02-n. Na_3AsO_3 zurücktitriert. Es wurde kein Verbrauch an NaJO_4 festgestellt. Gleich verlief ein Versuch bei 20° während 8 Tagen.

Acarbäthogenin (XXII) aus Sarmentosigenin E (XX) im Mikromaßstab. 1 mg Sarmentosigenin E (XX) wurde in 0,2 ml Alk gelöst, mit der Lösung von 1 mg KHCO_3 in 0,04 ml W versetzt und bei 20° stehengelassen. Nach 4 Tagen war nach Papierchromatogramm die Hauptmenge von Sarmentosigenin E (XX) unverändert, daneben war wenig Acarbäthogenin (XXII) und Sarmentosigenin-A-säure (fast stationärer Fleck) sichtbar. Nach 8 Tagen (Nr. 31 in Fig. 19) sowie nach 15 und 25 Tagen war das Bild noch sehr ähnlich.

⁵³) W. W. Scott, Standard Methods of chemical Analysis, p. 458, 5. Aufl., New York 1954, Herstellung der Na_3AsO_3 -Lösung (Methode mit CO_2) p. 1204.

Di-O-acetyl-acarbäthogenin (XXIII). 69 mg rohes Acarbäthogenin (XXII) wurden mit 1 ml abs. Py und 0,8 ml $(\text{Ac})_2\text{O}$ 24 Std. auf 35° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung gab 71 mg Rohprodukt, das im Papierchromatogramm (Nr. 22 in Fig. 17) zwei Flecke zeigte. Es wurde an 4 g Al_2O_3 chromatographiert (je 7 ml pro Fr.). Fr. 9 (20 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:4)) war amorph und zeigte im Papierchromatogramm zwei Flecke. Die Fr. 10–15 (eluiert mit Be-Chf-(1:4) und reinem Chf) gaben 43 mg farbloses Glas, das im Papierchromatogramm nur noch den r-Fleck zeigte. UV.-Spektrum vgl. Tab. 2.

Hydrolyse von XXIII im Mikromaßstab. 1,0 mg reines Di-O-acetyl-acarbäthogenin (XXIII) wurde in 0,1 ml Alk gelöst, mit 1 mg KHCO_3 in 0,04 ml W versetzt und im Dunkeln bei 20° stengelassen. Nach 4, 8 und 15 Tagen wurden kleine Proben der Lösung direkt auf Papier aufgetragen und chromatographiert. Nach 4 Tagen wurden zwei Flecke festgestellt entspr. XXIII und Mono-O-acetyl-acarbäthogenin (Fleck zwischen XXII und XXIII), aber kein freies Acarbäthogenin (XXII). Nach 8 und 15 Tagen hatte sich das Verhältnis zu Gunsten des Mono-O-acetyl-Derivats verschoben. Es waren jedoch höchstens Spuren von XXII entstanden. Ein Versuch in Me gab ebenfalls kein XXII.

Umsetzung von Thollosid mit Me und HCl im Mikromaßstab. 2,4 mg Thollosid (XXVII) wurden in 0,5 ml Me gelöst, mit 0,05 ml konz. HCl versetzt und bei 20° im Dunkeln stengelassen. Bei direkter Prüfung im Papierchromatogramm wurde sowohl nach 2 (Nr. 4 in Fig. 10) wie nach 6 Tagen neben dem sehr schwachen Fleck von Thollosid (XXVII) ein starker Fleck erhalten, der von XXV herrühren dürfte.

Hydrolyse von Thollosid mit HCl in An im Mikromaßstab. 3,8 mg Thollosid (XXVII) wurden in 0,8 ml Mannich-Reagens⁴⁹⁾ suspendiert und bei 20° im Dunkeln unter CO_2 stengelassen. Die Kristalle lösten sich nur langsam. Nach 4, 9, 13, 19 und 34 Tagen wurden Proben direkt auf Papier aufgetragen und chromatographiert (vgl. z. B. Nr. 6 in Fig. 10). Schon nach 4 Tagen waren u. a. Flecke sichtbar, die dem Sarmentosigenin A (III) sowie den γ - und α -Anhydrogeninen aus Sarmentosid A entsprachen. Das Bild änderte sich nur langsam, sogar nach 34 Tagen war der Fleck von Thollosid noch relativ stark, aber auch die Flecke der zwei Anhydrogenine waren merklich stärker.

Der Zucker zeigte in den von Moore und Mitarb.⁵⁴⁾ angegebenen Systemen dieselbe Laufstrecke wie Rhamnose, Glucomethylose, Gulomethylose und Allomethylose; in dem System von Nagata und Mitarb.²⁹⁾ ließen sich die zwei letztgenannten ausschließen, so dass vermutlich L-Rhamnose oder eine Glucomethylose vorliegt.

Thollosidsäure (XXX). 51 mg Thollosid (XXVII) wurden in 7 ml W gelöst und mit 3,4 ml kalt gesättigter CuII -Acetat-Lösung versetzt. Durch diese Lösung wurde 5 Tage lang ein langsamer Strom von O_2 geleitet. Nach dieser Zeit war nach Papierchromatogramm alles Thollosid oxydiert. Es wurde durch eine Säule von 1 g gut gewaschenem Kationen-Austauscher (Amberlite IR 120 in H^+ -Form) filtriert und mit 40 ml Me-W-(1:1) nachgewaschen. Das Filtrat lieferte beim Eindampfen 51 mg rohe Säure XXX als farblosen Schaum. Im Papierchromatogramm wurde nur ein Fleck erhalten (Laufstrecke ähnlich, aber noch kürzer als XII).

Teilsynthese von Tholläthosid (XXXI). 30 mg rohe Thollosidsäure (XXX) wurden in 1 ml Me gelöst, mit ätherischer Diazoäthanolösung bis zur bleibenden Gelbfärbung versetzt und 10 Min. stengelassen. Eindampfen im Vakuum gab 32 mg Rückstand. Das Material zeigte im Papierchromatogramm nur einen starken Fleck mit Laufstrecke wie Tholläthosid (XXXI), daneben zwei schwache kürzer laufende Flecke. Umkristallisieren aus Me-Ae gab 9 mg farblose Nadeln, Smp. $162\text{--}165^\circ$. Die Mischprobe mit authentischem Tholläthosid gab keine Smp.-Erniedrigung.

Tetra-O-acetyl-tholläthosid (XXXII) teilsynthetisch. 30 mg des obigen Materials (Kristalle und Mutterlaugen) wurden mit 1 ml abs. Py und 0,8 ml $(\text{Ac})_2\text{O}$ 3 Tage bei 20° stengelassen. Die Aufarbeitung gab 42 mg neutrales Rohprodukt, das im Papierchromatogramm nur einen starken Fleck (entspr. XXXII) zeigte, daneben nur sehr schwache andere Flecke. Es wurde an 1,2 g Al_2O_3 chromatographiert (je 4 ml Lösungsmittel pro Fr.).

⁵⁴⁾ J. A. Moore, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. 37, 755 (1954).

Die Fr. 13–22 (28 mg, eluiert mit Be-Chf-(3:2) bis (3:7)) gaben aus Me-Ae 19 mg farblose Nadeln, Smp. 157–159°, $[\alpha]_D^{25} = -17,0^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,77$ in Chf). Nach Mischprobe mit Tetra-O-acetyl-tholläthosid (XXXII) identisch.

Hydrolyse von Tholläthosid (XXXI) mit HCl in An im Mikromaßstab. 1,6 mg amorph gemachtes Tholläthosid wurden in 0,32 ml Mannich-Reagens⁴⁹⁾ gelöst und bei 20° im Dunkeln stehengelassen. Nach 4 Tagen zeigten sich im Papierchromatogramm (Nr. 29 in Fig. 19) neben dem Fleck des Ausgangsmaterials XXXI ein Fleck, der dem Acarbäthogenin (XXII) zukommen dürfte, sowie zwei wesentlich rascher laufende Flecke. Nach 16 Tagen war der Fleck von XXXI erheblich schwächer und derjenige von XXII stärker, während die zwei rascheren etwa gleich geblieben waren.

Teilsynthese von Tri-O-acetyl-thollodiolidosid (XXIX). 20 mg rohe Thollosidsäure (XXX) wurden mit 0,6 ml abs. Py und 0,4 ml (Ac)₂O 40 Std. bei 18° stehengelassen. Die Aufarbeitung gab 21 mg gelbliches Neutralprodukt. Es zeigte im Papierchromatogramm neben zwei schwachen einen sehr starken Fleck mit Laufstrecke wie XXIX. Es wurde an 1 g Al₂O₃ chromatographiert (pro Fr. je 2 ml Lösungsmittel). Die Fr. 6–15 (16,5 mg, eluiert mit Chf und Chf-Me-(99,5:0,5)) gaben aus Chf-Ae 13,8 mg kleine, farblose, runde Drusen, Smp. 322–327° (Zers.). Aus An-Ae hexagonale Blättchen, Smp. 323–327° (Zers.), $[\alpha]_D^{25} = -16,6^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,68$ in Chf). Nach Mischprobe, Färbung mit H₂SO₄ und Papierchromatogramm identisch mit Tri-O-acetyl-thollodiolidosid (XXIX).

Die Mikroanalysen wurden teils unter der Leitung von Herrn E. Thommen im Mikrolabor unseres Instituts (OAB), teils bei Herrn A. Peisker, Brugg (A. P.) ausgeführt.

Zusammenfassung.

Die Identität von Sarmentosid A mit dem früher als «Sarmentosid C» bezeichneten Präparat wird erkannt. Der Stoff liefert bei der Acetylierung zwei isomere Tetra-O-acetyl-Derivate, von denen nur eines eine freie Aldehydgruppe enthält. Das zweite (früher «Sarmentosid-C-acetat») ist ein Cycloacetal. Es gelang, krist. Sarmentosigenin A (Ausbeute ca. 6%) zu bereiten. Die präparative Überführung von Sarmentosid A in Sarmentosid-A-säure, Tri-O-acetyl-sarmentosid E und Acarbäthosid wird beschrieben. Subst. α wurde als Ca-Salz der Sarmentosid-A-säure erkannt.

Auf papierchromatographischem Weg wird die Überführung von Sarmentosid E in Sarmentosid-A-säure-methylester sowie in Acarbäthosid nachgewiesen. Diese und weitere Reaktionen erlauben die Zuordnung hypothetischer Formeln. Danach sollte Sarmentosigenin A vermutlich ein 3 β ,5,6 β ,14-Tetrahydroxy-19-oxo-5 β ,14 β -carden-(20:22)-olid darstellen. Dementsprechend liefert Sarmentosid A mit HCl in Methanol ein Cyclo-methylacetal, das nur eine CH₃O-Gruppe enthält. Thollosid unterscheidet sich von Sarmentosid A nur im Zuckeranteil (vermutlich Rhamnose oder Glucomethylose statt L-Talomethylose). Es liess sich analog in Thollosidsäure, Thollodiolidosid und Tholläthosid überführen. Auch die Bereitung von Sarmentosigenin E und Acarbäthogenin wird beschrieben.

Curriculum vitae

Als Sohn des Hans Weiss, Blechner- und Installateurmeister, und der Adolfine, geborene Muser, wurde ich, *Ekkehard Weiss*, am 18. Oktober 1927 in Karlsruhe (Baden) geboren.

Von 1934 bis 1938 besuchte ich verschiedene Volksschulen und von 1938 bis 1947 die Oberrealschule in Lörrach (Baden), mit einer Unterbrechung von einem Jahr, während dem ich Kriegsdienst leisten musste. Im Sommer 1947 erhielt ich das Zeugnis der Reife. Anschliessend studierte ich ein Jahr an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Freiburg (Breisgau). Ab Wintersemester 1948 studierte ich an der Universität Basel Chemie als Hauptfach und Botanik, Mineralogie und Physikalische Chemie als Nebenfächer. Im Frühjahr 1951 bestand ich das Vorexamen in Anorganischer Chemie und im Dezember 1953 das Vorexamen in Organischer Chemie.

Im Sommer 1954 begann ich unter der Leitung von Herrn Professor Dr. T. Reichstein mit der vorliegenden Dissertation, die im Frühjahr 1957 abgeschlossen werden konnte.

Nebenfachexamina legte ich ab in Mineralogie (1950), Botanik (1954) und Physikalischer Chemie (1957).

Tag des Doktorexamens: 8. Juli 1957.

